

INSTITUTO

POLITÉCNICO

NACIONAL



CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE  
INVESTIGACIÓN PARA EL DESARROLLO  
INTEGRAL REGIONAL UNIDAD OAXACA

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y  
APROVECHAMIENTO DE RECURSOS NATURALES  
(BIODIVERSIDAD DEL NEOTRÓPICO)

POTENCIALES DE MICORRIZACIÓN EN SUELOS DE BOSQUE  
MESÓFILO DE MONTAÑA CON DIFERENTES HISTORIAS DE USO

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

ERWIN PIÑÓN PENSAMIENTO

SANTA CRUZ XOXOCOTLÁN OAXACA, MÉXICO, MARZO 2009.



**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL**  
**SECRETARIA DE INVESTIGACION Y POSGRADO**

SIP-14

*ACTA DE REVISION DE TESIS*

En la Ciudad de Oaxaca de Juárez siendo las 13:00 horas del día 13 del mes de enero del 2009 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación del **Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca (CIDIR-OAXACA)** para examinar la tesis de grado titulada: **"Potenciales de micorrización en suelos de bosque mesófilo de montaña con diferentes historias de uso"**.

Presentada por el alumno:

Piñón Apellido paterno	Pensamiento materno	Erwin nombre(s)
		Con registro: B 0 4 0 8 4 2

aspirante al grado de: **MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y APROVECHAMIENTO DE RECURSOS NATURALES**

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACION DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA  
 Directora de tesis

M. en C. Irene Sánchez Gallen

Dr. Celerino Robles Pérez

Dr. Gabino Alberto Martínez Gutiérrez

M. en C. Gladys Isabel Manzanero Medina

Dr. Alejandro Flores Martínez

EI PRESIDENTE DEL COLEGIO

Dr. Juan Rodríguez Ramírez



INSTITUTO POLITECNICO  
 NACIONAL  
 CIDIR-UNIDAD-OAXACA



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

*CARTA CESION DE DERECHOS*

En la Ciudad de Oaxaca de Juárez el día 13 del mes enero del año 2009, el (la) que suscribe Piñón Pensamiento Erwin alumno (a) del Programa de **MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CONSERVACIÓN Y APROVECHAMIENTO DE RECURSOS NATURALES** con número de registro **B040842**, adscrito al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del la: M. en C. Irene Sánchez Gallen y cede los derechos del trabajo titulado: **"Potenciales de micorrización en suelos de bosque mesófilo de montaña con diferentes historias de uso"**, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección **Calle Hornos 1003, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca**, e-mail: [posgradooax@ipn.mx](mailto:posgradooax@ipn.mx) ó [erwinpipe@gmail.com](mailto:erwinpipe@gmail.com) Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

**Piñón Pensamiento Erwin**



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL  
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO  
CIUDAD DE OAXACA DE JUÁREZ

## Resumen

A lo largo de su historia, los bosques mesófilos mexicanos han sufrido diversos cambios de uso de suelo que han representado cambios en las condiciones ambientales tanto epigeas como hipogeas que, a su vez, afectan el desarrollo y permanencia de los organismos que ahí habitan. En particular, un grupo de organismos hipogeos de especial interés son los hongos micorrizógenos ya que forman una relación mutualista con las plantas denominada micorriza, ellos pueden presentar alteraciones drásticas en las características de su comunidad tal que afecten su fisiología, más específicamente su capacidad de inoculación, lo que puede ser fundamental ya que los esfuerzos de conservación y restauración que se hagan de estas zonas pueden ser infructuosos si no se toma en cuenta este aspecto. El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto de las prácticas de manejo del suelo, en dos municipios de la Sierra Norte de Oaxaca, sobre el potencial de inóculo de los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) y ectomicorrizógenos (HE) y su relación con la diversidad y riqueza específica de sus respectivas comunidades. El sitio de estudio se encuentra en la Sierra Norte de Oaxaca (México) entre las coordenadas  $96^{\circ} 18'37.38''$  W,  $17^{\circ} 23'0.04''$  N y  $96^{\circ} 14'2.37''$  W ,  $17^{\circ} 19'33.87''$  N, presenta mosaicos de bosque mesófilo de montaña (BMM), fragmentos de vegetación secundaria dominados por *Pinus chiapensis* (Vs), cafetales de sombra y milpas, principalmente. En el otoño de 2005, 2006 y 2007 se recolectaron muestras de suelo rizosférico, de los cuatro usos de suelo, con el fin de estimar el número de propágulos a través de la técnica del número más probable y el porcentaje de colonización de cada uso, además se determinó la presencia de estructuras micorrizógenas arbusculares y ectomicorrizógenas para estimar la riqueza y diversidad de los dos grupos de hongos. Se encontraron los dos tipos de hongos micorrizógenos en los cuatro usos de suelo, la riqueza de morfotipos de HMA fue similar y alta en todos

los usos de suelo; se encontraron más esporas de HMA en milpas y en cafetales; asimismo, todos los usos de suelo resultaron altos en densidad de propágulos, pero los pinares y las milpas fueron los que tuvieron los más elevados, en cuanto a los porcentajes totales de colonización, los valores mayores correspondieron a la vegetación secundaria y al cafetal y, de todas las estructuras, las hifas fueron las que contribuyeron más al porcentaje. Con respecto a los HE, la mayoría de los hongos macroscópicos recolectados estuvieron incluidos en la clasificación de hongos ectomicorrizógenos, y resultaron ser más vulnerables a las prácticas agrícolas que los HMA, no estuvieron presentes en las milpas principalmente por la remoción de hospederos como especies de *Pinus* y *Quercus* abundaron en los cafetales. Alrededor del 88% de los morfotipos identificados presentaron menos de 10 esporomas, independientemente del uso de suelo. Cabe destacar que estos datos señalan que el cambio de uso puede ser un factor muy importante para disminuir el potencial de inóculo y que este hecho está relacionado con el cambio en la diversidad y riqueza de los hongos.

**Palabras clave: Hongos micorrizógenos, Hongos micorrizógenos arbusculares, Hongos ectomicorrizógenos, Potenciales de micorrización, Bosque mesófilo de montaña.**

## **Abstract**

Tropical cloud forest has suffered several changes in soil uses that have represented changes in the ecological conditions upground and underground, those changes affects the development and permanence of their biota. In particular one hypogeal group of special interest are the mycorrhizal fungus, because they stablish mutual relationships with the plants. They can present drastical modificatioins in the characteristics of their communities that affects their physiology, more specifically their capacity of inoculation, which could be fundamental because of the conservation and restauration efforts could be infructous if this kind of organisms are ignorated.

The objective of this work was to establish if the soil and vegetation management practices used in two municipalities at the Sierra Norte de Oaxaca (Mexico), have negative impacts in the levels of mycorrhizal fungi, in terms of the soil capacity to produce mycorrhiza and in terms of the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and ectomycorrhizal fungi.

The study site is at la Sierra Norte de Oaxaca (Mexico) between the coordinates  $96^{\circ} 18'37.38''$  W,  $17^{\circ}23'0.04''$  and  $96^{\circ}14'2.37''$  W,  $17^{\circ}19'33.87''$  N. The presence of cloud forest fragments between secondary vegetation sites, cloud coffee and corn fields is one of the main landscape qualities, this four uses of soil were taken for the comparisons in this work.

In the autumn of 2005, 2006 and 2007 it has been collected soil samples of rhizospheric soil from the four main uses of soil to determine the presence of arbuscular mycorrhizal fungi and ectomycorrhizal fungi, the communities was characterized for both kind of mycorrhizal fungus in terms of morphotypes, finally we have done estimations of the richness and diversity of them also.

With certain frequency in the same soil sample we have seen the two kinds of mycorrhizal fungus. The number of morphotypes was similar in the case of the AMF between the soil uses. We found more AMF spores in the coffee and corn fields than the other uses of soil.

The estimations of richness were very high for the two groups of mycorrhizal fungus, all the soil samples give high results in propagules density, but the soils from the secondary vegetation and corn fields were much higher. In the colonization percentages the hyphae were the most abundant structure in the specific case of AMF.

We also found that the macroscopic fungi collected in two distinct years were classified in ectomycorrhizogenous fungus groups. This group was the most vulnerable fungus to the agricultural practices at the two municipalities, this could be related to host removal of *Pinus* and *Quercus* species. Contrary to the case of the generalist spectrum of host in the AMF.

**Key words: Mycorrhizal fungi, Arbuscular mycorrhizal fungi, Ectomycorrhizal fungi, mycorrhizal inoculum potential, Cloud forest.**

## **Dedicatoria**

**A mis padres Alma Rosa Catalina Pensamiento Guzmán y José Manuel Piñón**

**Santiago que me han dado la intrigante experiencia de la VIDA;**

A todos los trabajadores y luchadores de alma clara y coraza valerosa que han forjado con su labor esta gran nación que se llama MÉXICO;

A los seres humanos que con su sensible e ingeniosa presencia han contribuido a la causa de la ruptura de fronteras aparentemente infranqueables estableciendo esta gran nación que se llama LATINOAMÉRICA;

A todos los lectores atentos;

A mis amigos artistas y científicos que en sus elucubraciones han percibido el aroma del esbozo de este mundo nuevo que queremos vivir.

A los ciudadanos del mundo que no cejan en el deseoso anhelo de UNIÓN  
PLANETARIA.



## **Agradecimientos**

A todo el personal del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional- OAXACA por permitirme interactuar con ellos al continuar con mi formación, especialmente a la Dra. María del Rosario Arnaud Viñas;

A todos los profesores e investigadores del CIIDIR- OAXACA que contribuyeron activamente en mi desempeño durante mis estudios en dicha institución, especialmente al Dr. Rafael Felipe del Castillo Sánchez por haberme permitido formar parte de sus estudiantes.

A los miembros de mi comité revisor: la M. en C. Gladys Isabel Manzanero Medina y el Dr. Alejandro Flores Martínez, los Dres. Martha Angélica Cruz Bautista, Gabino A. Martínez G., Celerino Robles Pérez y muy especialmente a la M. en C. Irene Sánchez Gallen por haberme apoyado en los momentos más difíciles de mi vida.

A los Dres. Jesús Pérez-Moreno y Joaquín Cifuentes Blanco por su apoyo en la determinación taxonómica de los macromicetos estudiados en el presente trabajo, especialmente al Dr. Pérez-Moreno por su invaluable apoyo en la realización del mismo.

Al M. en C. Víctor Perea Estrada por su valiosísima ayuda en el reforzamiento de las técnicas básicas de identificación de morfotipos ectomicorrizógenos.

A todo el personal de paso o planta de la Facultad de Ciencias, UNAM, por su ayuda en el presente trabajo, a Patricia Olgún por la accesibilidad para el uso del invernadero y con muchísimo cariño al personal del Laboratorio de Ecología de la misma especialmente al Biól. Marco Antonio Romero Romero por su apoyo en el manejo del software y cualquier incidente con las computadoras y al M. en C. Oswaldo Núñez por su asesoría; además por sus consejos, préstamos, paciencia, apoyo y sonrisas al Dr. Eduardo Pérez, a la Biól. Yuriana Martínez Orea, a Jorge Meave, Irenita, Hugo, Lizbeth Guzmán Moreno, Dulce María, Wendy y muy especial, y afectuosamente, a Irene Sánchez Gallen por el financiamiento de materiales y salidas al campo.

A Raúl Rivera García y Eder Gil Méndez por su infatigable apoyo en el campo y en las consultas que les hice, de igual manera a todas las personas que me ayudaron en el campo y que por descuido no logro recordar sus nombres, especialmente a Aram González Danzós, Gastón Ochoa, Edén y a todos los colegas que me brindaron su desinteresado apoyo al acompañarme en nuestras exploraciones en el sitio de estudio en numerosas ocasiones;

A Doña Natividad por alojarme en su hermosa e interesantísima casa y por enseñarme a defenderme ante la adversidad, con la ayuda de sus sabios conocimientos;

A los Comuneros de San Juan Juquila Vijanos y San Miguel Talea de Castro por permitirme estudiar sus tesoros naturales y sociales, especialmente a todas las personas que me permiten escucharlas y mostrarles este trabajo.

A todo el personal de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN que me apoyó durante mi estancia en ella.

A todos los profesores e investigadores de un lugar llamado planeta Tierra por hacer públicas sus investigaciones y por permitir sorprenderme a diario acerca de los misteriosos y ocultos devenires de las micorrizas en él.

A todos los seres que me rodearon en el campo y en los diferentes laboratorios en donde logré avanzar en esta tarea y, especialmente, a todos los seres que permitieron ser estudiados y fotografiados durante la misma brindándome la oportunidad de aprender de ellos los secretos de esta mágica experiencia denominada VIDA.

Finalmente, a las inspiradoras entidades que mostraron sus bellezas y cantos cuando me sentí abatido por el alarido de un planeta en crisis curable.

## Índice de figuras

Figura 1. Estructuras características de los Hongos micorrizógenos arbusculares.....	10
Figura 2. Estructuras típicas de las ectomicorrizas.....	13
Mapa 1. Ubicación del sitio de estudio.....	25
Serie 1. Ejemplos de esporas de HMA fotografiadas.....	40
Figura 3. Estimación del número promedio de propágulos viables por tipo de uso de suelo.....	42
Figura 4. Porcentaje de colonización total (a) y de hifas (b) promedio.....	43
Figura 5. Porcentaje de colonización promedio total (a) y de hifas (b) por cada una de las diluciones.....	45
Figura 6. Porcentaje de colonización promedio total (a) y de hifas (b) en función de la interacción uso de suelo-dilución.....	46
Serie 2. Ejemplos de morfotipos de hongos ectomicorrizógenos fotografiados.....	54

## Índice de cuadros

Cuadro 1. Número total de morfotipos de HMA por tipo de uso de suelo.....	38
Cuadro 2. Frecuencia de aparición de los morfotipos de HMA por tipo de uso de suelo .....	39
Cuadro 3. Estimación de la riqueza de morfotipos y su diversidad por tipo de uso de suelo.....	41
Cuadro 4. Resumen del análisis de varianza de dos vías para el porcentaje de colonización total.....	43
Cuadro 5. Resumen del análisis de varianza de dos vías para el porcentaje de colonización por hifas.....	43
Cuadro 6. Valores de los índices de similitud de Sørensen y Bray-Curtis.....	47
Listado 1. Hongos macromicetos encontrados en dos muestreos realizados en septiembre de 2006 y 2007.....	47
Cuadro 7. Estimación de la riqueza de morfotipos de hongos macroscópicos y su diversidad por tipo de uso de suelo.....	50
Cuadro 8. Riqueza estimada y diversidad de hongos ectomicorrizógenos por uso de suelo.....	54
Cuadro 9. Valores de los índices de similitud de Sørensen y Bray-Curtis.....	55

	Página
Contenido	
Acta de revisión de tesis.....	i
Carta de cesión de derechos.....	ii
Resumen.....	iii
Abstract.....	v
Dedicatoria.....	vii
Agradecimientos.....	viii
Índice de figuras.....	ix
Índice de cuadros.....	x
Índice.....	xi
<b>1      Introducción.....</b>	<b>1</b>
<b>2      Objetivos.....</b>	<b>3</b>
2.1 Objetivos generales.....	3
2.2 Objetivos específicos.....	3
<b>3      Hipótesis.....</b>	<b>3</b>
<b>4      Antecedentes.....</b>	<b>4</b>
4.1 Micorrizas.....	4
4.2 Potenciales de micorrización.....	7
4.3 Características de la interacción mutualista micorriza arbuscular.....	8
4.4 Características de las ectomicorrizas.....	12
4.5 Importancia de las micorrizas en ecosistemas.....	14
4.6 El efecto de la composición de las comunidades vegetales en la comunidad de hongos micorrizógenos.....	17
4.7 El efecto de las historias de uso de suelo en la cantidad de inóculo infectivo de hongos micorrizógenos.....	18
4.8 Bosque mesófilo de montaña (BMM).....	20
4.9 Importancia de la conservación de los BMM en México.....	22
<b>5      Particularidades del sitio de estudio.....</b>	<b>25</b>
<b>6      Métodos.....</b>	<b>27</b>

6.1 Presencia de micorriza arbuscular en suelos de BMM con tipo de uso diferente.....	27
6.1.2 Caracterización de la comunidad de HMA por morfotipos en suelos con tipo de uso diferente.....	29
6.1.3 Potencial de micorrización de HMA en suelos con tipo de uso de suelo diferente.....	30
6.1.4.1 Estimación de la riqueza y diversidad de HMA en suelos tipo de uso diferente.....	31
6.1.4.2 Comparación entre suelos con historias de uso diferente de acuerdo con su composición de morfotipos de HMA.....	33
6.1.4.3 Determinación de los porcentajes de colonización con tipo de uso de suelo.....	33
6.2 Hongos ectomicorrizógenos.....	34
6.2.1 Presencia de colonización de hongos ectomicorrizógenos.....	34
6.2.2 Estimaciones de riqueza y diversidad de hongos macroscópicos.....	34
6.2.3 Caracterización de la comunidad de hongos ectomicorrizógenos por puntas de raíces micorrizadas.....	35
6.2.4 Análisis de datos.....	36
6.2.4.1 Estimación de la riqueza y diversidad de puntas ectomicorrizadas y morfotipos de hongos ectomicorrizógenos.....	36
6.2.4.2 Comparación entre suelos con historias de uso diferente de acuerdo a su composición de morfotipos ectomicorrizógenos.....	37
<b>7 Resultados.....</b>	<b>37</b>
7.1 Hongos micorrizógenos arbusculares.....	37
7.1.1 Presencia de micorriza arbuscular en suelos de BMM con historias de uso diferentes.....	37
7.1.2 Estructura de la comunidad de HMA en suelos con historias de uso diferentes.....	37
7.1.2.1 Datos observados.....	37
7.1.2.2 Datos estimados.....	40
7.1.3 Potencial de inóculo.....	41
7.1.3.1 Número más probable en suelos con tipo de uso diferente.....	41
7.1.3.2 Porcentajes de colonización.....	42
7.1.4 Comparaciones de la composición de morfotipos de HMA.....	46
7.2 Hongos macroscópicos.....	47
7.2.2 Estructura de la comunidad de hongos macroscópicos.....	47
7.2.3 Estimaciones de la riqueza y diversidad de hongos macroscópicos.....	50
7.3 Hongos ectomicorrizógenos.....	51
7.3.1 Incidencia de colonización.....	51
7.3.2 Riqueza y diversidad de morfotipos de hongos ectomicorrizógenos.....	51
7.3.2.1 Datos observados.....	51
7.3.2.2 Datos estimados.....	54
7.3.3 Comparación de la composición y abundancia de morfotipos de hongos ectomicorrizógenos entre usos de suelo.....	55

8	Discusión.....	55
9	Conclusiones.....	64
10	Perspectivas.....	65
11	Literatura citada .....	67

## **1 Introducción.**

Los bosques mesófilos de montaña (BMM) son una de las comunidades vegetales más diversas que existen a nivel mundial y de las más amenazadas, actualmente solo quedan algunos remanentes con superficies muy inferiores a las que abarcaban originalmente. En México, la situación no es diferente, la superficie que los BMM ocupaban ha disminuido drásticamente y solo se encuentran fragmentos con diferentes niveles de degradación biológica, urge implementar medidas para su conservación y restauración (Challenger, 1998).

Uno de los aspectos menos estudiados y fundamental para llevar a cabo una adecuada conservación y restauración de cualquier sistema es el suelo. En él ocurren procesos ecológicos y fisicoquímicos esenciales para el mantenimiento y desarrollo de las plantas, por ejemplo la descomposición, absorción y fijación de nutrientes y materia, la retención de agua, entre otros. Además, en el suelo habitan microorganismos que desempeñan un papel central en el crecimiento y supervivencia de las comunidades vegetales, tales como hongos y bacterias (Trevors y van Elsas, 1997).

Los hongos pueden establecer diversos tipos de relaciones con las plantas y una de ellas es la asociación mutualista denominada micorriza o asociación micorrícica, este tipo de interacción ha sido considerada entre las más importantes y extendidas a nivel mundial de acuerdo con la cantidad de ecosistemas y organismos que la presentan (Kernaghan, 2005; Buscot *et al.*, 2000). Entre las plantas que la establecen están las hepáticas, briofitas, helechos, gimnospermas y angiospermas y, por el lado de los hongos, encontramos a los cigomicetos, glomeromicetos, ascomicetos y basidiomicetos (Kottke

y Nebel, 2005; Smith y Read, 1997). Existen varios tipos de micorriza, en el caso del BMM los más representados son la micorriza arbuscular y la ectomicorriza, debido a las especies vegetales y fúngicas que participan en ella (Brundrett, 2002).

Una asociación mutualista representa, para ambos participantes, un balance beneficio-costo positivo; algunos de los beneficios que las plantas reciben son el incremento en la captura de nutrientes y agua a través de las hifas y mayor resistencia contra patógenos y metales pesados en el suelo. Para el hongo, el principal beneficio es el aporte de carbono necesario para su supervivencia, desarrollo y reproducción (Smith y Read, 1997). Además de la característica transferencia de sustancias que repercute directamente en el crecimiento y desarrollo de ambos socios micorrícicos, se ha observado que los hongos micorrizógenos pueden influir directamente en la diversidad y composición vegetal y viceversa (Kernaghan, 2005; van der Heijden *et al.*, 1998; Smith y Read, 1997; Bethlenfalvay y Linderman, 1992).

En ambientes constantemente transformados por las actividades antropogénicas, como son los BMM, es de esperarse que la interacción micorrízica también se vea afectada, la sustitución de especies vegetales nativas de BMM por especies exóticas, la disminución en la diversidad, la alteración de la estructura del suelo, son factores muy importantes que pueden repercutir en la relación, dada la interrelación tan estrecha entre hongos y plantas y, en consecuencia, las repercusiones a nivel de todo el ecosistema pueden ser irreversibles, de tal manera que la recuperación de este tipo de vegetación, o cualquier otro, sea muy difícil (Jasper *et al.*, 1991).



Una manera de conocer los efectos que dichas actividades tienen sobre las comunidades naturales y su relación con los hongos micorrizógenos es a partir de la evaluación de la capacidad que tiene un suelo determinado para micorrizar a las especies vegetales que llegan a él, es decir, estimando su potencial de inoculación (PI); mientras más perturbado un ambiente, su PI será menor y, por lo tanto, la necesidad de introducir hongos micorrizógenos nativos deberá ser contemplada, con mayor razón, por las estrategias de conservación y restauración, de acuerdo al daño detectado.

## **2 Objetivos.**

### **2.1 Objetivo general.**

Evaluar el efecto cambio de uso de suelo en la cantidad y diversidad de hongos arbusculares y ectomicorrizógenos en suelos de bosque mesófilo de montaña.

### **2.2 Objetivos particulares.**

- Estimar y comparar los potenciales de micorrización arbuscular de suelos con diferente tipo de uso.
- Estimar y comparar los potenciales de ectomicorrización de suelos con diferente tipo de uso.

## **3 Hipótesis.**

Los potenciales de micorrización variarán en función del tipo de uso de suelo; asimismo, el tipo de uso determinará la diversidad y composición de hongos micorrizógenos que se encuentre en cada suelo. Se esperan mayores niveles de micorrización en los sitios donde hay mayor biodiversidad vegetal.

## **4 Antecedentes.**

### **4.1 Micorrizas.**

El término micorriza fue establecido en 1885 por Albert Bernard Frank, está constituido por dos raíces griegas: mykes (hongo) y rhiza (raíz) (Sieverding, 1991). Esta palabra alude a la asociación mutualista entre hongos de distintos grupos taxonómicos y las raíces de entre el 90 y el 95% de las plantas estudiadas del mundo (Krishna, 2005). Las estructuras que se forman al establecerse esta asociación permiten flujos de nutrientes mediados por los hongos del suelo a las plantas, de las plantas al suelo y de plantas a otras plantas de la misma o diferente especie (Wilkinson, 1998). En los flujos de nutrientes que van del suelo a las plantas podemos encontrar a los siguientes macroelementos: N, P, K, Ca, Mg, Na, S y microelementos: B, Br, Cl, Cu, Cr, Cs, Co, Fe, Mo, Ni, Si y Zn (He y Nara, 2007); también se han estudiado los iones  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  (Marschner y Dell, 1994). En el caso del N y P los hongos tienen capacidad de adquirir tanto formas inorgánicas como orgánicas (He y Nara, 2007).

Los hongos micorrizógenos obtienen fotosintatos o compuestos de C provenientes de las plantas, principalmente carbohidratos (Leake *et al.*, 2004; Smith y Read, 1997; Sieverding, 1991) funcionando como una vía importante en el flujo de este fundamental elemento en todos los ecosistemas terrestres; ya que el costo de las plantas, de mantener las asociaciones micorrícicas ha sido estimado entre el 15 y el 28% de la fijación fotosintética neta de carbono (Finlay, 2004).

Al ser mutualistas en la gran mayoría de los casos, estas asociaciones micorrícicas presentan un balance beneficio-costo positivo, es decir, que a pesar de que, en términos energéticos, hay costos cuando se establece la interacción, los beneficios que resultan de la misma los superan (Smith y Read, 1997).

En cámaras experimentales, las hifas externas de los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) pueden entregar hasta el 80% de P, 25% de N, 10% de K, 25% de Zn y 60% de Cu a las plantas con las que están asociados (Marschner y Dell, 1994). Los hongos arbusculares son sólo uno de siete tipos de hongos micorrizógenos, aunque en muchos ambientes son los más importantes.

Dentro de los beneficios ecosistémicos que proporcionan los hongos se encuentra su rol en los ciclos biogeoquímicos del agua, azufre, carbono, cobre, fósforo, hierro, nitrógeno, potasio y zinc (Leake *et al.*, 2004) al transportar y hacer más disponibles distintos elementos en formas orgánicas e inorgánicas (Perez-Moreno y Read, 2004; Read y Perez-Moreno, 2003) entre diferentes componentes de los ecosistemas: suelo, biomasa fúngica, biomasa vegetal, biomasa microbiana, biomasa animal.

Las ventajas que poseen los hongos micorrizógenos en cuanto a la adquisición de nutrimentos del suelo, en comparación con las raíces de las plantas, se deben fundamentalmente a dos características: a que el micelio puede explorar un mayor volumen de suelo ya que el tamaño de las hifas tiene una relación proporcional longitudinal con las raíces de 300 a 8000 veces mayor (Dell, 2002), y en segundo lugar a que los hongos micorrizógenos poseen la capacidad de obtener materia orgánica e inorgánica del suelo (Perez-Moreno y Read, 2004; Read y Perez-Moreno, 2003).

Por otro lado, la importante participación de los hongos micorrizógenos en la estructura del suelo puede ser comprendida al considerar la red tridimensional que forman las hifas en el suelo, agrupando o enredando agregados menores y partículas de suelo, creando macroagregados estables (Bethlenfalvay y Linderman, 1992). También hay que considerar la participación de mucílagos extracelulares que se encuentran sobre las superficies hifales y que pueden retener fuertemente materiales orgánicos e inorgánicos ayudando a estabilizar agregados (Miller y Jastrow, 2000; Bethlenfalvay y Linderman, 1992); Además, las glicoproteínas entre ellas la glomalina en HMA, son un conjunto de compuestos que participan como agentes unificadores de partículas del suelo (Driver *et al.*, 2005; Miller y Jastrow, 2000; Sieverding, 1991). Como podemos apreciar, la participación de productos del micelio de los hongos micorrizógenos puede influir directamente en la estabilización de agregados del suelo, pero indirectamente también existe una participación importante ya que estos productos afectan a las comunidades bacterianas edáficas debido a que forman parte de los compuestos que actúan como sustrato para el crecimiento de dichas comunidades (Rillig y Mummey, 2006) y estas, a su vez, son componentes importantes de las multitudes de interacciones edáficas (Trevors y van Elsas, 1997).

Otros de los beneficios de la asociación micorrízica es que las plantas micorrizadas muestran una mayor resistencia a patógenos de diversos tipos (Graham y Miller, 2005; Finlay, 2004), el mecanismo mediante el cual ocurre esta protección no es muy claro, sin embargo, hay evidencias de que puede estar dado por la presencia de estructuras que actúan como barreras físicas, como lo es el manto fúngico en las ectomicorrizas (Smith

y Read, 1997) o por la producción de compuestos antibióticos y la activación de genes de defensa vegetales (Dell, 2002; Bethlenfalvay y Linderman, 1992).

La cantidad de beneficios que pueden proporcionar estos hongos está en función de la cantidad de raíces que puedan inocular, lo cual a su vez se relaciona con el número de propágulos presentes en el suelo y su calidad, todo esto se conoce como potencial de micorrización (Diagne *et al.*, 2001; Liu y Luo, 1994; Alexander *et al.*, 1992).

#### **4.2 Potenciales de micorrización.**

La mayor parte de los estudios de potenciales de micorrización (PM) se han efectuado con HMA. El PM se define como el número de partículas viables infectivas que contiene una muestra de suelo (Liu y Luo, 1994). Los métodos clásicos para estimar el PM o el potencial de inóculo de HMA son, por un lado, la extracción de esporas y, por el otro, el método del número más probable (Liu y Luo, 1994). Ambos métodos son una aproximación al conocimiento del potencial de micorrización de un suelo, sin embargo, tienen algunos impedimentos, por ejemplo, al extraer las esporas muchas veces se pierden algunas especies por sus pequeños tamaños (Hall, 1977), estos hongos pueden concluir su ciclo de vida sin haber producido esporas (Baylis, 1969), la especificidad del hongo o los hongos incluidos en el bioensayo de PM puede ser tal que no colonicen ampliamente a las plantas trampa (Adelman y Morton, 1986), también el crecimiento del hospedero puede determinar el nivel de micorrización (Wilson y Trinick, 1982) y variables edáficas asociadas con el bioensayo pueden alterar los resultados que se observarían en campo (Adelman y Morton, 1985); por todo lo anterior, algunas otras propuestas para estimar el PM buscan incluir la mayor parte del total de las estructuras

susceptibles de ser medidas que pueden conducir con la colonización micorrízica, es decir, esporas viables, puntos de conexión de hifas con raíces por unidad de longitud de las raíces, peso de las raíces, longitud de la raíz por unidad de peso de las raíces y vesículas (Liu y Luo, 1994).

Indirectamente la diversidad de hongos micorrizógenos puede indicar en cierta medida los potenciales de micorrización en casos en los que no se cuente con las posibilidades de efectuar los métodos clásicos y el propuesto por Liu y Luo (1994) ya que Tilman *et al.* (1996) establecen que la diversidad y la productividad están fuertemente ligadas en comunidades vegetales y de manera extensiva Naeem *et al.* (1994) sugieren que ésta puede ser una propiedad de las comunidades en general; si esta relación se mantiene para los hongos micorrizógenos, una comunidad micorrizógena más diversa debería ser más productiva, medida básicamente en términos de esporas y micelio, lo que se puede traducir en potenciales de micorrización incrementados, mayores tasas de colonización de raíces y respuestas de las plantas en su crecimiento (Kernaghan, 2005).

#### **4.3 Características de la interacción mutualista micorriza arbuscular.**

Dentro de las endomicorrizas el tipo más extendido en los ecosistemas terrestres es la micorriza arbuscular (Morton *et al.*, 2004) cerca del 80 % de las familias de las plantas con semilla que han sido estudiadas la presentan (Thorn, 1997; Sieverding, 1991). Los hongos que forman esta asociación, están incluidos en el Phylum Glomeromycota (Maheshwari, 2005), en el orden Glomales (Morton y Benny, 1990). Son importantes desde un punto de vista evolutivo ya que la colonización del medio terrestre por plantas acuáticas se dio una vez establecida una relación con un oomiceto, emparentado con

estos hongos; también desde un punto de vista edáfico son relevantes porque liberan al medio en que se encuentran, complejos glicoprotéicos entre los que se encuentra la glomalina; que promueve la formación de agregados en el suelo (Wright y Upadhyaya, 1998) desde un punto de vista ecológico por las ventajas que presentan muchas especies vegetales colonizadas por ellos (Rillig y Mummey, 2006; Graham y Miller, 2005; Leake *et al.*, 2004; Brundrett, 2002; Marschner y Dell, 1994).

Su taxonomía está basada principalmente en la morfología de las esporas incluyendo características como forma, color, tamaño, grosor, tipo y naturaleza de las paredes, conexión hifal y ornamentaciones, principalmente (Smith y Read, 1997).

El micelio de estos hongos es cenocítico, es decir, no produce septos durante su crecimiento inicial, sólo con la edad o al ser dañado (Morton *et al.*, 2004). Este grupo de hongos son mutualistas obligados, es decir, dependen totalmente de la asociación con sus hospederos vegetales para obtener fotosintatos o compuestos de carbono (Morton *et al.*, 2004; Sieverding 1991) por lo que su aislamiento puede dificultarse mucho.

Los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) se caracterizan por presentar estructuras microscópicas ramificadas denominadas arbusculos dentro de algunas células vegetales radicales colonizadas, a través de estas estructuras, los HMA intercambian sustancias con las plantas (Morton *et al.*, 2004). De manera esquemática la Figura 1 representa las estructuras características de estos hongos y la localización de ellas dentro de las raíces colonizadas.

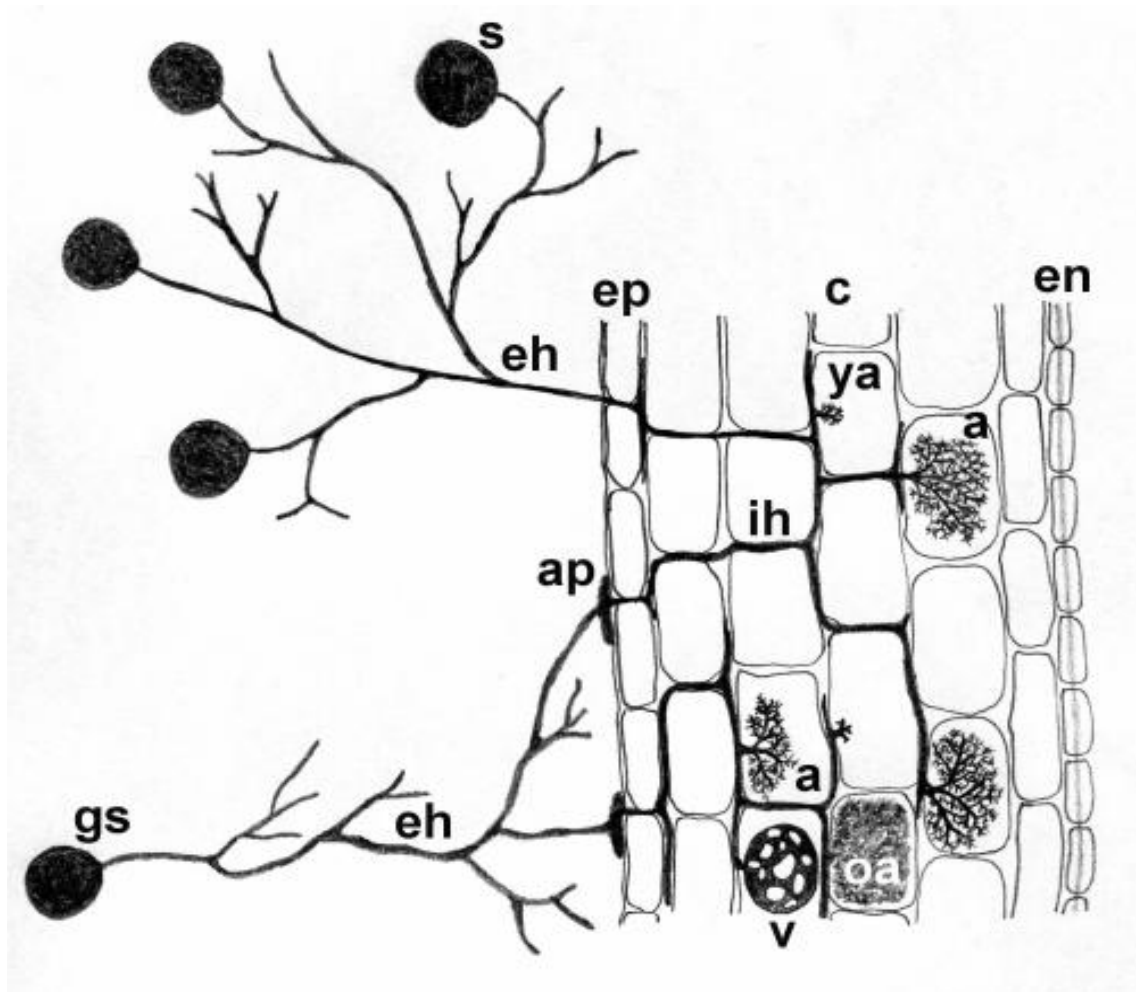


Figura 1. Estructuras características de los HMA: a= arbuscúlo, ap= apresorio, c= corteza radical, eh= hifa extraradical, en= endodermis, ep= epidermis, ih= hifa intraradical, gs y s = espora, oa= arbuscúlo viejo, v= vesícula, ya= arbuscúlo joven. (fuente <http://www.genetik.uni-bielefeld.de/Genetik/phyto/images/sv116120.jpg>)

Los Glomales suelen encontrarse en el suelo, aunque también han sido aislados de muestras de epífitas y en detritos vegetales (Gemma y Koske, 1995). Estos hongos no tienen reproducción sexual, sus esporas son estructuras de resistencia y permanencia (Morton *et al.*, 2004), por lo que cuando esporulan lo hacen más como una respuesta a condiciones ecológicas estresantes que sufren los hospederos, p.e. falta de agua (Guadarrama y Álvarez, 1999) y no respondiendo a una condición de su ciclo de vida.

Actualmente solo se han descrito alrededor de 200 especies a nivel mundial, sin embargo, constantemente siguen surgiendo nuevas, sobre todo en los trópicos que han



sido pobremente estudiados en este respecto. Una cuestión muy interesante y reciente son los métodos moleculares que se han aplicado para la ayuda en su identificación, aún falta mucho que explorar con estas herramientas pero han probado ser muy útiles en algunos aspectos, particularmente el taxonómico (Sanders, 2002).

Sobre su fisiología, los HMA pueden recibir hasta el 20% del carbono fijado fotosintéticamente por las plantas (Smith y Read, 1997), a cambio de esto, el micelio extrarradical, debido a los menores diámetros de las hifas en comparación con las raíces, permite el alcance de sitios más estrechos en el suelo y puede incrementar entre 5 y 200 veces el volumen de suelo efectivo explorado, lo que repercute en una mayor captura de algunos nutrientes y agua provenientes del suelo y, por lo tanto, un incremento sustancial en el estatus nutricional e hídrico de las plantas que los presentan.

Estos imprescindibles organismos tienen su mayor importancia en el crecimiento de las plantas, sobre todo en suelos en los que hay bajos niveles de fósforo (Harley y Smith, 1983), de esta forma mejoran, de forma significativa, el estatus nutricional e hídrico de las plantas, por lo que son más robustas y pueden soportar efectos ambientales negativos, tales como herbivoría o estrés hídrico (Wamberg *et al.*, 2003; Finlay, 2004).

Otra función ecológica que tienen estos organismos es la participación en procesos de mineralización y toma de fuentes de P orgánicas (Tarafdar y Marschner, 1994), aunque esto no ha sido claramente demostrado debido a que se ha observado que en el micelio extrarradical se establece una relación con bacterias que producen fosfatasas (Artursson y Jansson, 2003). Asimismo, pueden participar en la producción de hormonas vegetales

y en la protección contra parásitos fúngicos de las raíces (Smith y Read, 1997; Bethlenfalvai y Linderman, 1992).

#### **4.4 Características de la asociación mutualista ectomicorriza.**

Hasta ahora el número de especies fúngicas ectomicorrizógenas conocidas en el mundo se encuentra entre 5,000 y 6, 000 (Agerer, 2006). De acuerdo con diferentes autores estos hongos se asocian con cerca del 10 % de las plantas terrestres mundiales (Thorn, 1997).

En las ectomicorrizas el hongo puede pertenecer a los grupos Ascomycetos, Basidiomycetos o incluso al de los Zigomicetos. Estos hongos tienen un micelio que crece entre las células de la corteza radical de los hospederos vegetales pero no penetra dichas células (Smith y Read, 1997).

Morfológicamente, en este tipo de micorriza, se establece el manto fúngico, que es una red de hifas estrechamente entrelazadas que cubre a las raíces alimenticias, no a las raíces gruesas de sostén y que inhibe su crecimiento, formando estructuras radicales muy particulares y que permiten identificar, por su color y patrón de ramificación a diferentes taxa fúngicos incluso a nivel de especie (Sakakibara *et al.*, 2002). Otra estructura característica de esta asociación es la red de Hartig, que es la red hifal intercelular de las radicales de las plantas colonizadas donde se da principalmente el intercambio de nutrientes (Finlay, 1989). Estas estructuras se presentan a manera de esquema en la figura 2.

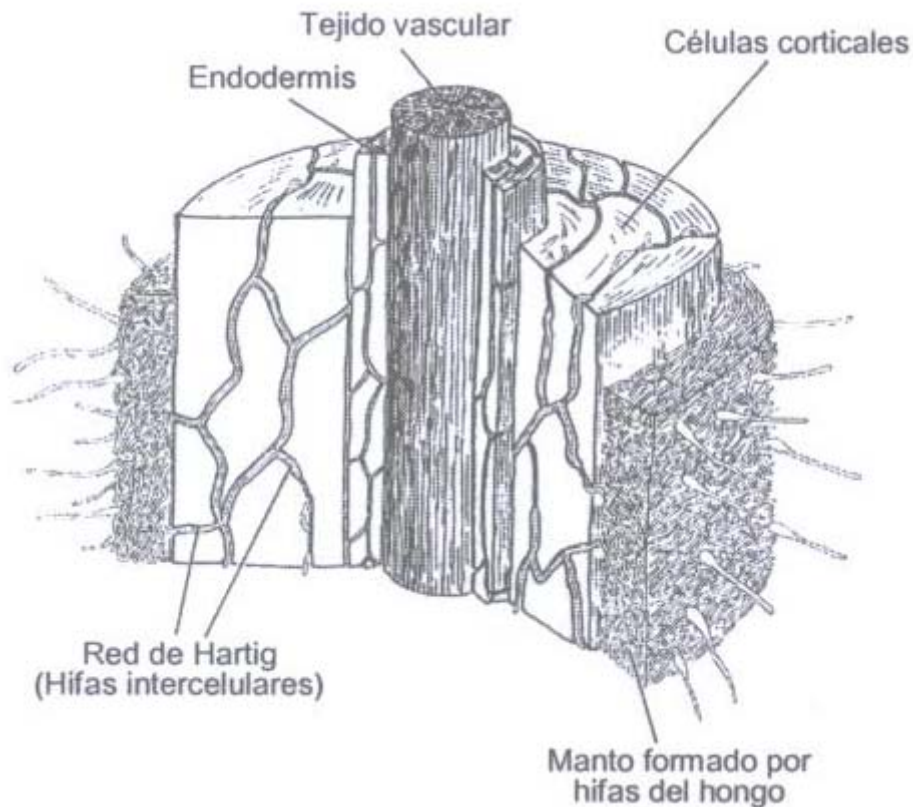


Figura 2. Estructuras típicas de las ectomicorrizas (fuente <http://www.cannabiscave.net/foros/attachment.php?attachmentid=22563&stc=1&mp;thumb=1&d=1130697899>).

Esta asociación se presenta en plantas de 130 géneros en 43 familias (Carlile *et al.*, 2001) y pueden llegar a ser muy específicas. Algunas familias son: Pinaceae, Cupressaceae, Fagaceae, Betulaceae y Salicaceae (Malloch *et al.*, 1980), y algunos géneros vegetales son: *Abies*, *Alnus*, *Betula*, *Carpinus*, *Carya*, *Castanea*, *Cedrus*, *Fagus*, *Juniperus*, *Larix*, *Ostrya*, *Pinus*, *Picea*, *Populus*, *Quercus*, *Salix* y *Tilia* (Carlile *et al.*, 2001; Malloch *et al.*, 1980).

En este tipo de micorriza se ha descubierto la capacidad de los hongos para extraer compuestos orgánicos de la materia orgánica en descomposición, como los pertenecientes a los grupos de compuestos nitrogenados, sulfatos, carbonatos y fosfatos (Leake *et al.*, 2004), por lo que en algunos casos pueden tener dos hábitos, mutualista y

saprobio, ello indica que pueden no ser tan obligados como en el caso de los arbusculares ya que son capaces de recibir los carbohidratos necesarios para su mantenimiento y desarrollo de dos fuentes, sin embargo, en general, la producción de esporomas sólo se da si están asociados a plantas (Kaul, 2002).

En contraste con los HMA la mayoría de los hongos ectomicorrizógenos suelen presentar ciertos niveles de especificidad con sus hospederos (Smith y Read, 1997) y el micelio de algunos de los hongos ectomicorrizógenos puede ser aislado y cultivado sin la presencia de una planta, siempre y cuando tenga un suministro de carbohidratos (Harley y Smith, 1983).

#### **4.5 Importancia de las micorrizas en los ecosistemas.**

El éxito de las prácticas que buscan la conservación de suelos, usualmente es juzgado por la habilidad para mantener o crear agregados de suelo estables que son resistentes a la erosión. La calidad y la distribución de estos agregados afectan directamente el tamaño de los poros en el suelo (Bethlenfalvay y Linderman, 1992). Las propiedades de los agregados y de los poros constituyen la estructura del suelo, la cual determina no sólo el advenimiento de los procesos químicos y físicos del suelo, sino también de los biológicos, afectando la disponibilidad de alimento, guaridas, agua, oxígeno y otros recursos para los diferentes organismos habitantes del suelo (Bethlenfalvay y Linderman, 1992). La característica que tiene el micelio extrarradical de los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) para formar dichos agregados de suelo y en los procesos de acumulación de materia orgánica en los suelos es básica para la conservación de ambientes cuyo suelo ha sido degradado (Finlay, 2004; Bethlenfalvay y

Linderman, 1992) y también para ambientes naturales sin perturbación (Rillig y Mummey, 2006).

Otro factor importante en estos procesos es la secreción de enzimas capaces de solubilizar formas de fósforo y nitrógeno no disponibles para las plantas (Finlay, 2004; Dell, 2002).

Asimismo, los hongos micorrizógenos, tanto arbusculares como ectomicorrizógenos, son capaces de inmovilizar metales pesados en las hifas o en las vesículas lo que repercute en menos síntomas de toxicidad en el tallo y otros órganos vegetales (Finlay, 2004; Dell, 2002), su presencia también puede determinar la supervivencia de especies vegetales en niveles de pH desfavorables (Finlay, 2004) y en concentraciones altas de sales (Dell, 2002).

Estos hongos pueden alterar la fisiología de las raíces haciendo que secreten más exudados a la rizósfera, alimento de gran parte de la microflora, además de que sus hifas y esporas son consumidas en gran cantidad por bacterias e insectos que habitan el suelo (Finlay, 2004; Bethlenfalvay y Linderman, 1992).

Un proceso fundamental en todos los suelos es la fijación de nitrógeno, proceso en el que se ha demostrado la participación positiva de los hongos micorrizógenos sobre fijadores asociados con plantas o incluso sobre sistemas bacterianos de vida libre (Finlay, 2004; Bethlenfalvay y Linderman, 1992) estableciéndose una relación tripartita muy interesante desde el punto de vista ecológico.

Otros beneficios de los hongos micorrizógenos en las plantas, incluyen la estimulación de la producción de sustancias de crecimiento y la alteración de otras sustancias químicas que provocan en las plantas incrementos en la tasa fotosintética (Bethlenfalvay y Linderman, 1992) y con ello un mayor incremento en la productividad de los simbiontes vegetales, por lo tanto en su biomasa.

Los efectos de la interacción entre hongos micorrizógenos y las plantas asociadas con ellos comenzaron a ser estudiados a nivel individuo, es decir, en sistemas en los que las plantas se disponían en unidades experimentales individuales aisladas de otros individuos vegetales pero en contacto con los hongos micorrizógenos, posteriormente los estudios comenzaron a realizarse en ecosistemas naturales y en sistemas agronómicos, en donde se han descrito interacciones entre las comunidades vegetales y fúngicas a través de conexiones subterráneas donde se ha evidenciado la transferencia subterránea de carbono y nitrógeno entre miembros vegetales mediante conexiones hifales, lo que reduce los niveles de competencia de las plantas que están asociadas con hongos micorrizógenos o favorece a aquellas que los presentan (Simard *et al.*, 1997).

Otro efecto fundamental de los hongos micorrizógenos a nivel de la comunidad edáfica y en las comunidades vegetales es que aquéllos son factores positivos determinantes de la biodiversidad vegetal, de la variabilidad de los ecosistemas y de la productividad de las comunidades vegetales, por lo tanto de su funcionamiento (van der Heijden *et al.*, 1998). También se ha visto que las comunidades de plantas afectan la estructura de la comunidad y la diversidad de hongos micorrizógenos (Johnson *et al.*, 2005), lo cual indica que existen mecanismos de retroalimentación entre las comunidades de hongos micorrizógenos y las de plantas.

En bosques templados la mayor parte del fósforo se encuentra en compuestos orgánicos (Harrison, 1987), tales como fosfato-inositoles, ácidos nucleicos y fosfolípidos, por lo que el acceso de estos compuestos para las plantas micorrizadas depende de sus asociaciones con un amplio espectro de hongos ectomicorrizógenos y HMA que producen enzimas extracelulares capaces de adquirir fósforo en forma orgánica (Finlay, 2004; Dighton, 1991).

El papel de los hongos micorrizógenos en los ecosistemas cubre un amplio espectro de actividades por lo que les es atribuible un rol multifuncional en ellos (Finlay, 2004), lo que permite darnos cuenta de la importancia clave que tienen en los ambientes en los que están presentes, que son prácticamente todos los ecosistemas terrestres naturales, gran parte de los agroecosistemas y muchos sistemas agrícolas (Cardoso y Kuyper, 2006; van der Heijden *et al.*, 1998; Francis y Read, 1994).

#### **4.6 El efecto de la composición vegetal en la comunidad de hongos micorrizógenos.**

La estructura de las comunidades de hongos micorrizógenos depende tanto de factores abióticos como bióticos, siendo el más obvio de estos la estructura de la comunidad de plantas presentes (Kernaghan, 2005). Lo anterior está influenciado por la cantidad de colonización fúngica que es soportada por una comunidad vegetal. Los hongos micorrizógenos pueden responder rápidamente a la proporción de plantas micotróficas, es decir, plantas que se asocian con hongos para obtener parte de sus nutrientes, ya que los hongos micorrizógenos obligados no pueden vivir sin sus huéspedes y los hongos micorrizógenos facultativos dependerán de condiciones ambientales propicias para la interacción por parte de los simbioses vegetales de manera que la asociación no

sea inhibida por la planta, pudiendo establecerse así la interacción, en particular este tipo de inhibiciones de la interacción pueden deberse a los niveles de fertilidad del suelo ya que en dichos suelos las plantas micotróficas facultativas presentan menores niveles de asociación con sus simbiontes fúngicos que en suelos infértiles (Janos, 1980), a largo plazo esto afecta a la diversidad y composición de las comunidades de hongos micorrizógenos.

En algunos casos las ectomicorrizas pueden dominar sobre las micorrizas arbusculares u otros tipos de micorrizas simplemente por la dominancia de un tipo de hospedero específicamente ectomicorrizógeno, como ocurre en los bosques boreales, y en algunos bosques templados y tropicales (Buscot *et al.*, 2000).

La alta densidad sostenida de especies vegetales no micorrizógenas puede reducir y limitar la densidad de las poblaciones de hongos micorrizógenos indirectamente, al no sostener la colonización micorrizógena (Janos, 1980).

La estructura de la comunidad de plantas también puede participar de otra manera en la estructura de la comunidad de hongos micorrizógenos de acuerdo con las diversas sustancias que son liberadas por las raíces de diferentes plantas a la rizósfera, lo que repercute en el crecimiento hifal y en la germinación de esporas (Kernaghan, 2005).

#### **4.7 El efecto de las prácticas agrícolas en el potencial de micorrización.**

Algunos datos sugieren que el potencial de inóculo micorrícico de diferentes suelos está directamente relacionado con la diversidad de hongos micorrizógenos, tanto



arbusculares como ectomicorrizógenos (Kernaghan, 2005). Es de esperarse que en sitios naturales, tanto el potencial de inóculo como la diversidad de hongos micorrizógenos sean mayores que en los sistemas agrícolas, e incluso más que en los sistemas agrícolas intensivos (Li *et al.*, 2007; Lovera y Cuenca, 2007; Moreira *et al.*, 2007; Boddington y Dodd, 2000). Se ha encontrado que la diversidad de hongos micorrizógenos es mayor en sitios naturales al ser comparados con sitios que han tenido perturbaciones por uso agrícola cercanos entre sí dentro de una misma área con factores climáticos prácticamente iguales. Una explicación es que en las transformaciones de sitios naturales a sitios agrícolas la diversidad de plantas se reduce drásticamente, este es uno de los factores más importantes que determinan la diversidad de hongos micorrizógenos. Otros factores que reducen la diversidad de estos hongos en términos de la reducción del micelio micorrizógeno extraradical y en términos de la densidad de esporas de HMA se encuentran el arado y la perturbación del suelo (Boddington y Dodd, 2000). Además de estos factores existen otros que pueden explicar estos efectos, en particular diferencias a nivel del suelo como la temperatura, luminosidad, humedad, fertilidad del suelo, exudados radicales, niveles de pH, competencia con otros microorganismos y posibles interacciones entre ellos (Moreira *et al.*, 2007). Otros estudios también sugieren que la cantidad, calidad y heterogeneidad de la materia orgánica del suelo participan en alguna medida en la respuesta de los hongos micorrizógenos, así como la presencia de incendios naturales o provocados y la fumigación (Kernaghan, 2005; Franke-Snyder *et al.*, 2001).

Estudios relacionados con la disponibilidad de inóculo micorrícico viable en terrenos manejados con diferentes prácticas de uso de suelo, muestran patrones divergentes de respuesta, que pueden ser nulas cuando la intensidad del uso es baja o media, o

contrariamente, puede hacerse evidente algún efecto negativo en la riqueza de las especies micorrizógenas en los sitios de alta intensidad de uso (Oehl *et al.* 2003; Richter *et al.*, 2002; Franke-Snyder *et al.*, 2001; Ingham y Wilson, 1999; Jasper *et al.*, 1991). La información que aportan los diferentes estudios citados, indica que la intensidad de la perturbación o del uso de suelo afectará diferencialmente a las comunidades de hongos micorrizógenos, y que hay prácticas que son más efectivas en la conservación de la diversidad de estos hongos como la baja intensidad de uso de suelo, la presencia de policultivos y/o la rotación de ellos y la agricultura orgánica. Por otro lado el uso intensificado de un suelo, la utilización de una sola especie vegetal y la fertilización no orgánica disminuyen las posibilidades de permanencia de los hongos micorrizógenos en suelos.

Un elemento que hay que considerar en este tipo de respuestas, es que existen diferencias en ellas al comparar a distintas especies de hongos micorrizógenos, por ejemplo se ha encontrado que en el caso de los HMA, especies del género *Scutellospora* son más susceptibles a las actividades antropogénicas (Lovera y Cuenca, 2007; Boddington y Dodd, 2000) y especies del género *Acaulospora* y *Glomus* han sido reportadas como más tolerantes a los disturbios en el suelo (Boddington y Dodd, 2000).

#### **4.8 Bosque mesófilo de montaña (BMM).**

El BMM es un tipo de vegetación con el elemento característico arbóreo entre 15 y 20 m de altura (Bubb *et al.*, 2004), y tamaño foliar intermedio (Velázquez-Rosas *et al.*, 2002). Se presenta en montañas tropicales en donde los niveles de precipitación pueden ser entre 500 y 6 000 mm anuales, con incrementos adicionales a la precipitación

normal entre un 15 y 20 % por un fenómeno denominado lluvia horizontal ocasionada por el contacto de las frecuentes nubes y neblina con los diferentes niveles de la vegetación.

Pueden encontrarse en altitudes de 500 hasta 3 500 m, se caracterizan por presentar abundantes comunidades de epífitas, el promedio de temperatura anual puede ser entre 12 y 20° C. Presentan concentraciones excepcionales de biodiversidad de acuerdo con el 0.26 % de la superficie terrestre mundial que aproximadamente ocupan (Bubb *et al.*, 2004).

Debido a que se presentan en zonas montañosas su distribución se puede equiparar a la de los archipiélagos de distintos tamaños (Laurance *et al.*, 1998), lo que los hace muy sensibles a efectos de borde y disturbios naturales y antropogénicos.

Existen abundantes epífitas de grupos pertenecientes a los musgos, helechos orquídeas y bromelias, que también pueden presentar asociaciones micorrízicas (Smith y Read, 1997; Gemma y Koske, 1995; Koske y Gemma, 1990).

Los BMM, al igual que muchos ecosistemas, han sufrido una pérdida de su hábitat que se agrava más al estar dispersos geográficamente en áreas relativamente pequeñas donde las condiciones climáticas y biogeográficas permiten que se establezcan (Churchill *et al.*, 1995). A pesar de esta gran amenaza, estas comunidades no han recibido la atención debida de acuerdo con la importancia que tienen, considerando los niveles de biodiversidad, los volúmenes de provisión de agua dulce que circulan por ellos y por su participación como refugio de especies endémicas y amenazadas, en

resumen por sus servicios ecosistémicos reales y probables (Bubb *et al.*, 2004). Todos los bosques tropicales están amenazados pero el caso de los BMM es único ya que se trata de ecosistemas frágiles susceptibles a cambios climáticos pequeños que alteren la dinámica de aporte de nubes y consecuentemente la humedad y temperatura (Bubb *et al.*, 2004).

#### **4.9 Importancia de la conservación de los BMM en México.**

De acuerdo con Challenger (1998) en México se ha perdido más del 50% de la cobertura de BMM, por lo que él mismo establece que una cifra de 8 000 km<sup>2</sup> (800 000 ha) podría ser una estimación razonable de la cobertura del BMM en dicho año, estas áreas se encuentran distribuidas en más de 100 localidades de la República Mexicana. En algunas de estas localidades, las áreas del BMM han sido reducidas a fragmentos muy pequeños incapaces de sustentar, a largo plazo, poblaciones viables de muchas especies de flora y fauna típicas de este hábitat.

La producción comercial de café, la expansión de los asentamientos humanos, la agricultura, la ganadería, la explotación de depósitos piroclásticos, como materiales de construcción, y la extracción desmedida de madera son amenazas para estos ecosistemas (Challenger, 1998). De hecho, sitios reportados por Challenger (1998) con BMM, a 10 años de esa valoración ya han desaparecido (observaciones personales).

Entre los servicios ambientales que puede ofrecer el BMM encontramos: la captura de CO<sub>2</sub>, la recarga de mantos acuíferos, la formación de suelos, la prevención de la erosión (Pagiola *et al.*, 2003), proporcionar hábitats para diversas especies de plantas, animales

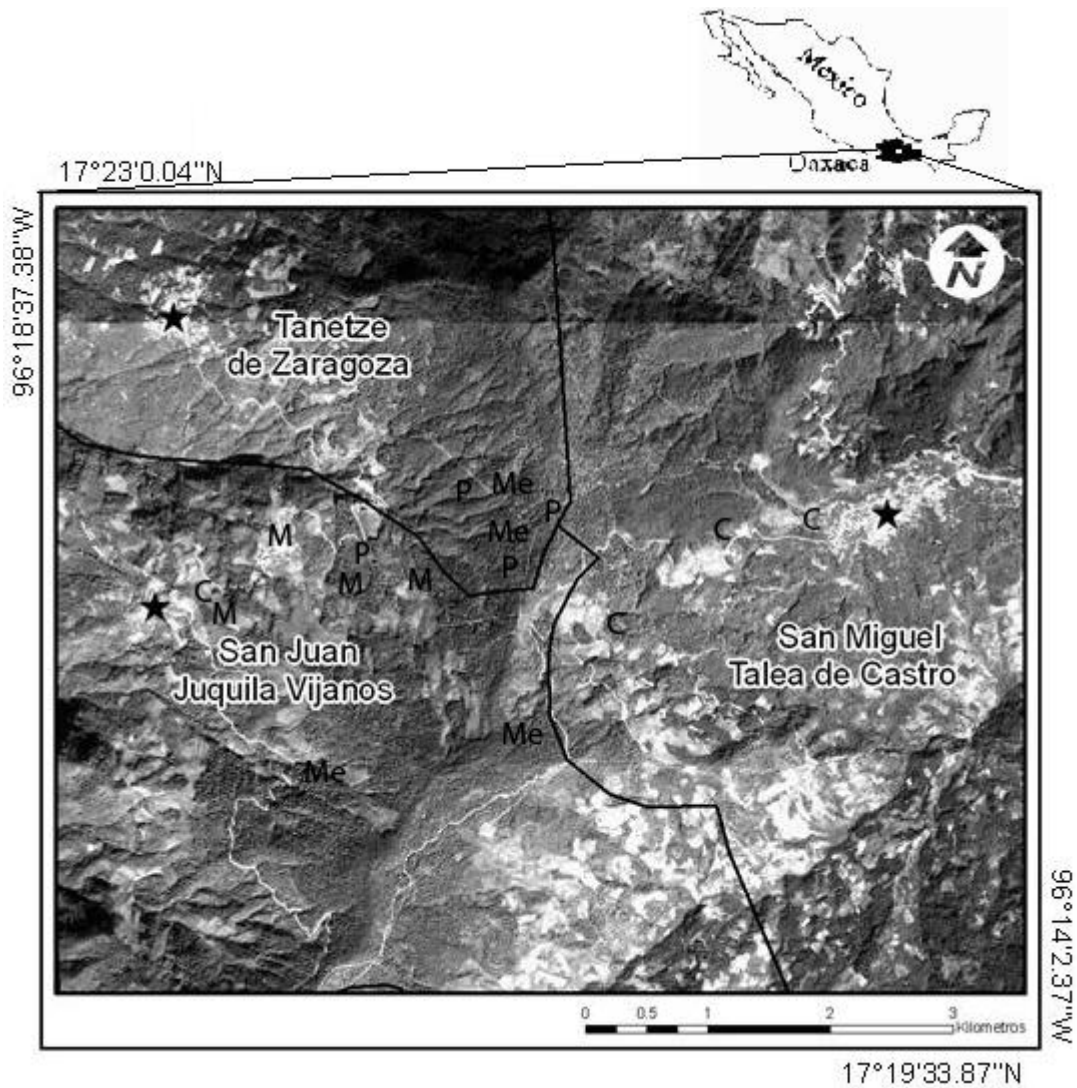
y hongos, además de ofrecer una serie de atractivos del paisaje como espacios para la recreación y múltiples beneficios intangibles estéticos y culturales (Williams-Linera, 2007).

Adicionalmente no puede faltar por considerarse la provisión sustentable de árboles maderables con potencial comercial para construcción, carpintería y ebanistería como por ejemplo el acailite, el aguacatillo, los encinos o robles, el fresno, el ilite, el liquidámbar, la marangola, el moral, el nogal, el pepinque, el pino, el romerillo, el sabino, el trompillo, el xicalahuate, entre otros (Williams-Linera, 2007). Pero también hay diversos productos no maderables como plantas medicinales, ornamentales, comestibles, algunas que son usadas para rituales, como combustibles, o de cerca viva y varias otras útiles para hacer jabón, amarres y tintes. En los BMM gran cantidad de productos no maderables pueden ser utilizados, pero falta explorar y catalogar la cantidad de información disponible ahora dispersa en decenas de tesis y documentos sobre la utilización racional y sostenible de todos los productos (Williams-Linera, 2007).

Entre 2500 y 3000 especies de plantas habitan, de modo preferencial o exclusivo, los BMM mexicanos, lo cual hace de ellos, los ecosistemas más diversos de México en términos del área que ocupan (menos del 0.5% del territorio nacional de acuerdo con las últimas estimaciones) (Rzedowski, 1996; Dirzo, 1994). Siguiendo con datos referentes a su flora, en la categoría de especie el endemismo alcanza hasta un 30%, además de presentar especies relictuales (Challenger, 1998). Otros grupos que presentan alto endemismo son los reptiles, anfibios, aves y mamíferos (Williams-Linera, 2007), grupos que colocaban a México como uno de los países megabiodiversos en décadas anteriores.

El valor económico y ecológico que tiene el BMM como protector y formador de suelo de cuencas hidrológicas y de manantiales que surten de agua a diversas poblaciones, además de ser una fuente de ingresos para los pobladores locales a través de actividades relacionadas con el ecoturismo y el uso sustentable de recursos maderables y no maderables; para comercialización en mercados amigables con el ambiente (Williams-Linera, 2007) son razones suficientes para llevar a cabo un plan prioritario de conservación de los últimos remanentes de este tipo de vegetación y su pronta restauración en todo el país. No se debe olvidar que si se desean restaurar los fragmentos ya muy alterados o zonas abandonadas, solamente de las áreas de bosque remanentes se podrán obtener los propágulos suficientes para la restauración, además de ser fuentes de variabilidad genética de plantas que actualmente ya son cultivadas tales como, papaya, tomate, aguacate, frijol, lo que permitiría manipular por selección artificial la calidad de esos productos y aseguraría su persistencia futura ante enfermedades y ataques de herbívoros (Bubb *et al.*, 2004).

## 5 Zona de estudio



Mapa 1. Las cotas exteriores indican las coordenadas geográficas, las letras C, M, Me y P, indican los tipos de usos de suelo muestreados, es decir, cafetales, milpas, bosque mesófilo de montaña y vegetación secundaria dominada por *P. chiapensis*, respectivamente. ★ señala las cabeceras municipales.

**Localización.** La zona de estudio se encuentra entre los 17° 23' 0.04'' y los 17°19' 33'' latitud N y 96° 18' 37'' y 96°14' 2.3'' longitud W, en la Sierra Norte de Oaxaca, las muestras de suelo fueron recolectadas en sitios con una altitud de  $1850 \pm 150$  m en los puntos indicados por las letras en la figura anterior. Esta área se encuentra ubicada en la zona limítrofe entre los municipios San Miguel Talea de Castro, San Juan Juquila Vijanos y Tanetze de Zaragoza. En esta área están presentes mosaicos de BMM en

diferentes estados de conservación, áreas de cultivos y vegetación secundaria dominados *Pinus chiapensis* (Bautista-Cruz y del Castillo, 2005).

**Clima.** El clima es templado-húmedo a subhúmedo (CONABIO, 2002). La precipitación total promedio anual en la estación meteorológica más cercana es de 1719 (mm) y la temperatura media anual se encuentra entre 20 y 22 °C (Bautista-Cruz y del Castillo, 2005).

**Suelos.** El suelo es inceptisol en las áreas boscosas y entisol en los campos de cultivo (Bautista *et al.*, 2003). Los cambios físicos y químicos a nivel del suelo, a lo largo de la sucesión secundaria en el área de estudio son fuertes. Los valores de pH promedio registrados fluctúan de 3.5 en parcelas de BMM a 5.25 en parcelas de maíz y café (observaciones del equipo de trabajo).

Otras características de estos suelos son su riqueza en C orgánico y en N total, además de tener niveles altos de Al intercambiable, asimismo, estos suelos presentan bajos niveles de P disponible para las plantas y también bajos niveles de Ca, Mg, Na y K (Bautista-Cruz y del Castillo, 2005).

**Vegetación.** Los terrenos agrícolas son utilizados para producir maíz y café principalmente; las zonas en donde se encuentra la vegetación secundaria son utilizadas para la obtención de madera a baja escala para uso doméstico y como material de construcción. Una de las causas de la presencia de zonas de vegetación secundaria es el abandono de terrenos agrícolas por pérdida de fertilidad y con el fin de darles un periodo de recuperación.



Manejo del suelo. Se utiliza el método de roza tumba y quema para el aclareo de la vegetación original. Este método de aclareo origina cambios en las propiedades edáficas (ver Bautista-Cruz et al., 2005) y en la vegetación (Blanco-Macías, 2001). Los terrenos desmontados se utilizan para el cultivo del maíz y café.

## **6 Métodos.**

En este trabajo se utilizaron tres métodos diferentes para comparar los potenciales de micorrización de los suelos estudiados, se utilizó el método del número más probable de propágulos infectivos, el método de conteo de esporas y el método de comparación de la diversidad, para los HMA se utilizaron los tres métodos y para el caso de los HE se utilizó el método de comparación de la diversidad. Se seleccionaron cuatro repeticiones por cada uso de suelo en todas las pruebas, el área en cada repetición fue la misma; cada muestra compuesta fue obtenida de cuatro submuestras de suelo colectadas en diferentes puntos de la parcela. Las parcelas fueron seleccionadas porque se encontraban cercanas entre si y porque el acceso a ellas no represento dificultades sustanciales.

### **6.1 Hongos micorrizógenos arbusculares.**

#### **6.1.1 Presencia de micorriza arbuscular en suelos de Bosque mesófilo de montaña (BMM) con tipo de uso diferente.**

Se seleccionaron cuatro parcelas por cada tipo de uso de suelo considerado, BMM, cafetales, milpas y de fragmentos de vegetación secundaria dominada por *Pinus chiapensis* (Vs). En mayo de 2006 se tomaron tres columnas de suelo por parcela, en total 12 por tipo de uso de suelo, es decir 48 en total. En el caso de los suelos de BMM, cafetales y Vs se removió la hojarasca del suelo (entre 8 y 15 cm), posteriormente se utilizaron nucleadores de PVC de 20 cm de largo por 5 cm de diámetro. Los tubos se enterraron completamente en el suelo con la ayuda de un mazo de hule, luego se

extrajeron y se verificó que, en todos los casos, en la parte inferior de las muestras se encontrara el estrato inorgánico subyacente a las capas anteriores de suelo. En el caso de las muestras tomadas de milpas la cubierta de hojarasca presente sobre el suelo fue menor que en los casos anteriores.

Todas las muestras de suelo fueron trasladadas al Laboratorio de microbiología de suelos, de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN en México D.F. Fueron colocadas en una cámara de crecimiento con ciclos de 16 h luz a 20 ° C a temperatura constante. Posteriormente fueron regadas con agua cada tercer día, con el fin de que las plántulas del banco de semillas emergieran y tres meses después, se colectaron sus raíces y se tiñeron con el método de fucsina ácida (Byrd *et al.*, 1983) que consiste en colocar las raíces, ya lavadas, de cada tubo en un frasco vial de 10 ml con KOH (hidróxido de potasio) al 10%, aplicar calentamiento por dos minutos, posteriormente con las raíces blandas, blancas y enjuagadas, adicionar HCl (Ácido clorhídrico) al 10% con el fin de fijar el colorante, pasados 10 minutos esta última sustancia se elimina y sin enjuagar se adiciona el colorante (dos partes de agua por una de ácido láctico y una de glicerina) dejándolas toda la noche, posteriormente se colocaron en una solución de lactoglicerol sin colorante, en donde pueden guardarse hasta hacer laminillas con 20 a 25 segmentos de 2 cm de largo de raíces teñidas, una por tubo de suelo. Una vez montadas todas las raíces posibles, se determinó la presencia de estructuras características de los HMA.

### **6.1.2 Caracterización de la comunidad de HMA por morfotipos en suelos con tipo de uso diferente.**

Se seleccionaron cuatro parcelas por tipo de uso de suelo, en cada una de ellas se localizaron cinco puntos al azar y de cada uno de ellos se tomaron aproximadamente 300 g de suelo, retirando la hojarasca previamente, que se mezclaron dando como resultado una muestra compuesta por parcela y, en total, 16 muestras compuestas, cuatro por historia de uso. Todas las muestras fueron trasladadas al Laboratorio de Ecología de la Facultad de Ciencias, en México, D.F., donde fueron secadas y tamizadas usando un tamiz con apertura de malla de 2 mm.

Con el fin de separar las esporas contenidas en el suelo de cada tipo de uso y clasificarlas por morfotipos, se pesaron cinco muestras de 20g (100 g en total) por cada historia de uso estudiada, en total se contó con 20 muestras de suelo. Las esporas fueron separadas de acuerdo al procedimiento de Brundrett (1991), cada una de las muestras pesadas fue tamizada en dos tamices, uno encima del otro, el de arriba de malla con 0.5 mm de apertura y el de abajo de malla con apertura de 44 micras, para eliminar materia orgánica, detritos grandes y liberar las esporas atrapadas en esos sustratos, luego se distribuyó el suelo que quedó en el tamiz más pequeño en tubos para centrífuga de 50 ml, se suspendió la muestra adicionando agua hasta los 30 ml, se centrifugaron a 3500 r.p.m. durante 4:25 min, se descargó el sobrenadante y se resuspendió la pastilla de suelo en azúcar al 40%. Otra vez se centrifugaron a 3500 r.p.m. durante 1 min. Posteriormente, se filtró la fase líquida en un tamiz de 44 micras de apertura y la fase sólida se lavó suavemente con agua y se colocó en cajas Petri para la revisión al microscopio estereoscópico, las esporas se separaron y se capturaron usando agujas de disección y pipetas Pasteur; luego fueron depositadas en un tamiz de tela de nylon con

malla de 20 micras de apertura. Las esporas se lavaron con Tween 80 (detergente) durante 1 min, posteriormente se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio al 5% y se montaron en portaobjetos con PVLG, para su observación al microscopio óptico.

De acuerdo con las características de tamaño, coloración, grosor y número de paredes, ornamentaciones y presencia de hifas conectadas se distinguieron los diferentes morfotipos de HMA y se realizaron fotografías al microscopio óptico.

### **6.1.3 Potencial de micorrización de HMA en suelos con tipo de uso diferente, prueba del número más probable de propágulos infectivos.**

Se colectaron muestras de suelo de cuatro parcelas de cada tipo de uso de suelo estudiada, es decir 16 parcelas en total, en cada una de las parcelas se localizaron cinco puntos aleatoriamente y se tomaron aproximadamente 300g de suelo retirando la hojarasca previamente. El suelo fue trasladado al Laboratorio de Ecología de la Facultad de Ciencias, UNAM en México, D. F., donde fue secado y tamizado con un tamiz de una apertura de malla de 2 mm. Se mezclaron homogéneamente todas las muestras correspondientes al mismo tipo de uso de suelo y se efectuaron las diluciones para realizar la prueba del número más probable (Sieverding, 1991). El suelo se diluyó nueve veces en proporción 1:3 con arena esterilizada ( $4^0$ ,  $4^{-1}$ ,  $4^{-2}$ ,  $4^{-3}$ , ...,  $4^{-9}$ ), considerando el suelo sin diluir como la dilución cero. Cada dilución se replicó cinco veces. En principio, se colocaron 150 g de arena estéril en la base de cada vaso de unicel, luego se sembraron plántulas de sorgo, germinadas una semana antes del montaje del experimento, después se adicionó el sustrato diluido y, finalmente, se cubrió con 50 g de arena estéril para evitar contaminaciones. Se incubaron todas las muestras en

invernadero y se cosecharon a la décima semana, solo las raíces que crecieron en la capa correspondiente al sustrato diluido. Las raíces se tiñeron siguiendo la técnica de azul de tripano (Phillips y Hayman, 1970), posteriormente se observaron al microscopio óptico, se determinó la presencia o ausencia de estructuras de HMA por dilución y réplica para estimar el número más probable de propágulos infectivos. Para ello se aplicó la siguiente fórmula (Sieverding, 1991):

$$\log \Omega = x \cdot \log a - K$$

Donde:

$\Omega$  es el número de propágulos activos

x es el número promedio de unidades experimentales (ue) colonizadas

Por lo que:

$$x = \frac{\text{Número total de ue colonizadas}}{\text{Número de réplicas por dilución}}$$

$y = s - x$ , donde:

y es requerido para definir los valores de K de la tabla de Fisher y Yates (1970),  
s es el número de niveles de dilución (considerando el suelo si diluir como el primer nivel,

a es el factor de dilución

K es encontrado en la tabla VIII de Fisher y Yates (1970) para los valores determinados de x o y.

También se calcularon los intervalos de confianza ( $\Omega_s$  superior,  $\Omega_i$  inferior en el límite de 95%):

$$\log \Omega_{s,i} = \log \Omega \pm \frac{S\Omega}{\sqrt{n}} \cdot z$$

Donde:

$S = \sqrt{0.201}$  para la dilución utilizada,

n = número de réplicas por dilución, en nuestro caso 4 ya que se descartó una ue,

z = 1.645 para una probabilidad del 95%

#### **6.1.4 Análisis de datos.**

##### **6.1.4.1 Estimación de la riqueza y diversidad de HMA en suelos con tipos de uso diferente.**

Con los datos obtenidos en la caracterización de morfoespecies de HMA por tipo de uso de suelo, se utilizó el programa EstimateS versión 8.0 (Colwell, 2006) para estimar la riqueza de morfotipos de hongos micorrizógenos arbusculares, así como los valores de diversidad respectivos. Dicho programa permite obtener valores promedio estimados del número de especies, en nuestro caso morfoespecies, de acuerdo con diversos algoritmos, en este caso utilizamos los de ICE (Incidence-based Coverage Estimator), Jack2 (Jackknife 2) y Chao2, que se han señalado como índices de incidencia muy aproximados para comunidades muy diversas (Chazdon *et al.*, 1998) y a partir del programa anteriormente mencionado permiten construir las curvas de enrarecimiento. Asimismo, los índices de diversidad seleccionados fueron los de Shannon-Wiener y el inverso del índice de Simpson, cuyas fórmulas son:

$$H = - \sum_{i=1}^S p_i \log p_i$$

$$\tilde{D} = 1 - D = 1 - \sum_{i=1}^S p_i^2,$$

Donde S es la riqueza,  $p_i$  es la fracción de individuos pertenecientes a la  $i$ ésima especie

Se realizó un análisis de varianza no paramétrico de una vía (prueba de Kruskal-Wallis) con el programa Statistica ver. 6 (StatSoft, Inc., 2001) con el fin de determinar si hubo diferencias significativas en el número de esporas de HMA en función del tipo de uso de suelo.

#### **6.1.4.2 Comparación entre suelos con historias de uso diferentes de acuerdo con su composición de morfotipos de HMA.**

Se calcularon los índices de similitud de Sørensen y Bray-Curtis (formulación modificada del de Sørensen considerando abundancias por morfotipo) aplicando el programa EstimateS versión 8.0 (Colwell, 2006).

#### **6.1.4.3 Determinación de los porcentajes de colonización de suelos con tipo de uso diferente.**

Con las laminillas de raíces teñidas con la técnica de Philips y Hayman (1970) realizadas para cada tipo de uso de suelo en la dilución cero (suelo sin diluir) de la prueba del número más probable; se realizaron lecturas de 100 campos determinando la presencia de esporas, hifas, arbusculos, vesículas o campos sin ningún tipo de colonización. Se calcularon los porcentajes de colonización de estas estructuras para cada uso de suelo considerando:

$$\% \text{ de colonización por estructura} = \frac{\text{Campos de estructura} * 100}{\text{Número total de campos observados}}$$

Además, se estimó el porcentaje de colonización total y de hifas en cada una de las diluciones por uso de suelo, no solamente para la dilución cero. Se aplicó un análisis de varianza con el fin de encontrar diferencias significativas de acuerdo al tipo de uso de suelo, la dilución y su interacción, para cumplir con los requerimientos de dicho análisis fue necesario transformar el porcentaje de colonización con logaritmo natural y el de hifas con arcoseno de la raíz cuadrada del dato. Posteriormente, en caso de detectar diferencias significativas, se llevó a cabo una prueba de Tukey de comparación múltiple de medias para obtener los grupos.

## **6.2 Hongos ectomicorrizógenos.**

### **6.2.1 Presencia de colonización de hongos ectomicorrizógenos.**

El caso de la ectomicorrización fue estudiado a partir de plántulas de *P. chiapensis* previamente germinadas en condiciones asépticas utilizando pomecita triturada como sustrato. En la cuarta semana posterior a la germinación, se trasplantaron las plántulas a las mismas columnas de suelo que fueron utilizadas para la detección de micorrizas arbusculares (apartado 6.1.1).

Tres meses después de transplantadas, las raíces de los pinos se analizaron a simple vista y bajo microscopio estereoscópico para la verificación de la presencia de estructuras ectomicorrizógenas en cada tipo de uso de suelo y se fotografiaron. Las características que se utilizaron fueron coloraciones, tipo y número de ramificaciones, ornamentaciones en el manto y red de Hartig.

### **6.2.2 Estimaciones de riqueza y diversidad de hongos macroscópicos en suelos con tipos de uso diferentes.**

Se realizaron dos colectas de hongos macroscópicos en el mes de septiembre de 2006 y 2007. Esto permitió tener una mayor información de la composición de estos hongos. Se hicieron recorridos en áreas con los diferentes tipos de uso de suelo considerados en este estudio, excepto milpas, dadas las características de especificidad de estos hongos con sus hospederos que no están presentes en este tipo de uso de suelo. Los esporomas se fotografiaron en fresco con la intención de facilitar su identificación.



Posteriormente fueron cortados longitudinalmente y colocados en cajones de madera (huacales) sobre rejillas metálicas para facilitar la difusión del calor emitido por series de tres focos de 60 watts ubicados en la base de dichos cajones. Todo lo anterior fue realizado con la finalidad de secar el material recolectado; el procedimiento utilizado duró varias horas en muchos casos ya que la mayoría de los especímenes presentaban tamaños y tejidos gruesos que dificultaban la deshidratación. Una vez realizado lo anterior, se depositaron en bolsas de polipapel y fueron trasladados al Herbario de hongos de la Facultad de Ciencias, UNAM en México, D. F. para su determinación taxonómica. Se revisó la pertenencia a grupos de hongos ectomicorrizógenos en distintas fuentes de información electrónica (<http://www.deemy.de>, e información disponible en diferentes artículos disponibles en internet).

### **6.2.3 Caracterización de la comunidad de hongos ectomicorrizógenos por puntas de raíces micorrizadas.**

Entre el 17 y el 18 de junio de 2007 se trazó una línea de 50 m de largo por parcela, con dos parcelas por tipo de uso de suelo, que en este caso correspondieron a suelos de BMM, cafetales y suelos de vegetación secundaria dominada por *P. chiapensis*, las milpas no fueron consideradas debido a que ningún hospedero ectomicorrizógeno estaba presente; en total se tuvieron dos líneas por historia de uso y seis líneas en total. Sobre cada una de las líneas, cada 5 m, fueron tomadas muestras individuales de suelo con nucleador cilíndrico de 20 cm de largo, 5 cm de diámetro y 2 mm de espesor. Por cada historia de uso se procesaron 20 muestras y en total se tomaron 60 columnas de suelo. Este material fue refrigerado y transportado al Laboratorio de Ecología de la Facultad de Ciencias, UNAM, en México, Distrito Federal.

Dichas columnas fueron descargadas en charolas de disección. Se separaron todas las raíces de trozos de roca presentes, detritos y conglomerados. Lo anterior fue realizado meticulosa y cuidadosamente para evitar daños a las raíces recolectadas, posteriormente se verificó la presencia de las estructuras ectomicorrícicas externas: redes de hifas, manto fúngico y raíces modificadas con la ayuda de un microscopio estereoscópico. En los casos en los que fue necesario se utilizó azul de algodón para teñir dichas estructuras. Se contaron las puntas micorrizadas de cada uno de los morfotipos que fueron determinados por diversas características morfológicas tales como tipo de ramificación, coloración y tamaño de los morfotipos. Se realizó registro fotográfico de los morfotipos encontrados.

#### **6.2.4 Análisis de datos.**

##### **6.2.4.1 Estimación de la riqueza y diversidad de morfotipos de puntas ectomicorrizadas y morfotipos de hongos ectomicorrizógenos.**

Se utilizó la versión 8.0 del programa EstimateS (Colwell, 2006) para realizar estimaciones de la riqueza y diversidad esperada de morfotipos de puntas ectomicorrizadas y de hongos ectomicorrizógenos (apartado 6.2.3) en función del tamaño de muestra por cada tipo de uso de suelo. Los algoritmos seleccionados para estimar la riqueza esperada, al igual que en el caso de los hongos micorrizógenos arbusculares, fueron ICE, Chao2 y Jack2 y los índices de diversidad utilizados fueron el de Shannon-Wiener y el inverso de Simpson.

#### **6.2.4.2 Comparación entre suelos con historias de uso diferentes de acuerdo a su composición de morfotipos de hongos ectomicorrizógenos.**

Se utilizó la versión 8.0 del programa EstimateS (Colwell, 2006) con el fin de calcular los índices de similitud de Sørensen y Bray-Curtis, el primero considera exclusivamente incidencia de las especies y el segundo abundancias específicas.

### **7 Resultados.**

#### **7.1 Hongos micorrizógenos arbusculares (HMA)**

##### **7.1.1 Presencia de micorriza arbuscular en suelos de Bosque mesófilo de montaña con historias de uso diferentes.**

La colonización de HMA se presentó en todos los usos de suelo estudiados, aunque del total de muestras (48), solo el 54 % mostró algún indicio de colonización por HMA, Los porcentajes de presencia de estructuras micorrícicas en las muestras fueron 50% para los terrenos con uso de suelo de bosque mesófilo de montaña y milpas y de 58% para la vegetación secundaria dominada por *Pinus chiapensis* y cafetales de sombra.

##### **7.1.2 Estructura de la comunidad de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA).**

###### **7.1.2.1. Datos observados.**

Debido a que no fue posible identificar las esporas separadas hasta especie, se clasificaron en función del color, tamaño y ornamentación, de tal forma que se obtuvo un total de 206 morfotipos totales por los cuatro usos de suelo y se contabilizó el número de esporas por cada uno de ellos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Número total de morfotipos y esporas de hongos micorrizógenos arbusculares por tipo de uso de suelo. BMM; Vs; Cafetales y Milpas.

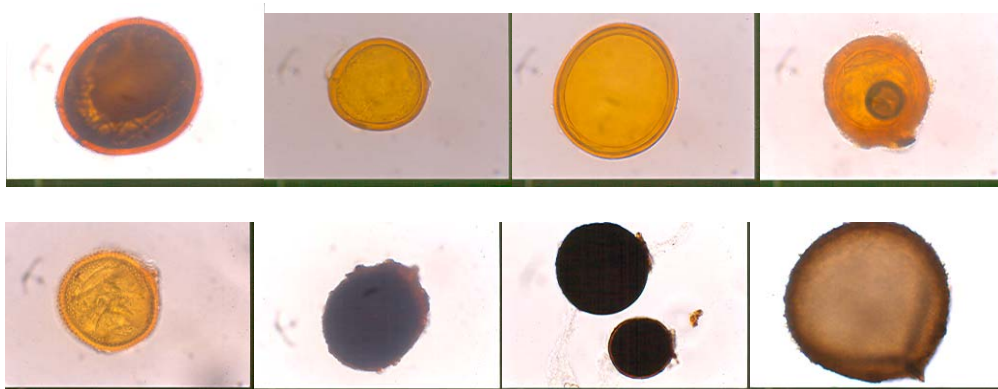
Tipo de uso de suelo	Número total de morfotipos/100g de suelo	Número de morfotipos exclusivos/ 100g de suelo	Número total de esporas encontradas en 100g de suelo
BMM	77	32	346
Vs	82	35	627
Cafetal	71	43	856
Milpa	76	32	915
TOTALES	206	139	2170

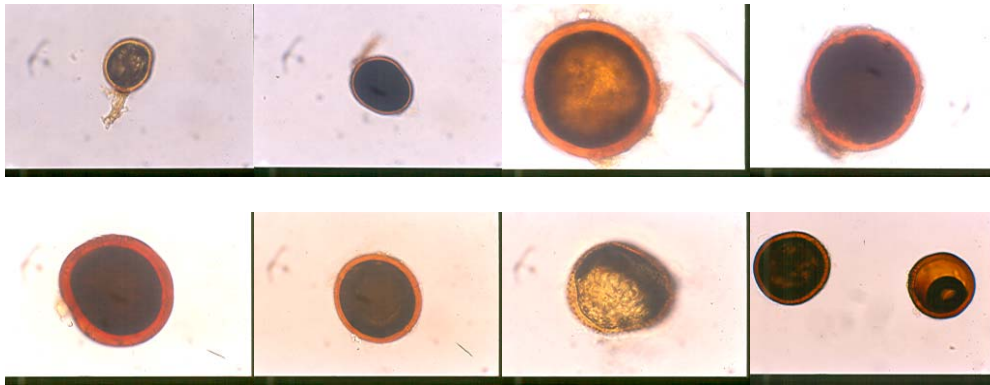
Al comparar los valores del número de morfotipos totales no se observan diferencias evidentes entre los usos de suelo, excepto en el caso de la vegetación secundaria con respecto a los cafetales que presentan 12% menos morfotipos, de hecho, contrario a lo esperado, los cafetales presentaron la menor riqueza de morfotipos, aunque cabe destacar que tuvieron el mayor número de morfotipos exclusivas en ellos, es decir, de los 71 morfotipos que se presentaron solo comparten el 40% con algún o algunos otros tipos de uso de suelo (Cuadro 1). Sin embargo, al considerar el número de esporas sí se presentaron diferencias significativas en función del tipo de uso de suelo con los valores mayores en las milpas y cafetales, correspondiendo el menor al BMM ( $\chi^2=12$ ,  $p<0.001$ ). Se presentó un mayor número de morfotipos asociados a un solo tipo de uso de suelo mientras que aquellos presentes en más de uno se fueron reduciendo, de tal forma que solamente 10 de los 206 morfotipos encontrados (5%) coincidieron en todos los tipos de uso (Cuadro 2).

Cuadro 2. Frecuencia de aparición de los morfotipos de hongos micorrizógenos arbusculares por tipo de uso de suelo.

Número de usos de suelo en los que estuvieron presentes	Número de morfotipos encontrados	Frecuencia de aparición
1 uso de suelo	129	menor
2 usos de suelo	52	↓
3 usos de suelo	15	
4 usos de suelo	10	
TOTAL de morfotipos		206

En el caso de los HMA encontramos que de los 206 morfotipos presentes en una escala regional, es decir, considerando los cuatro usos de suelo, los más abundantes fueron los morfotipos 45, 70, 142, 156 y 184 con 498, 225, 119, 110 y 108 esporas respectivamente, que corresponden al 3% del total de morfotipos y en función del número de esporas corresponden al 48%. Aproximadamente el 20% presentaron entre 11 y 95 esporas. Los morfotipos menos abundantes, con 10 o menos esporas corresponden al 77% del total de morfotipos. Algunos ejemplos de los morfotipos encontrados son los siguientes (Serie 1).





### **Serie 1. Esporas de hongos micorrizógenos arbusculares fotografiadas**

#### **7.1.2.2. Datos estimados.**

Contrario al caso previo, la riqueza estimada de morfotipos para el BMM fue más de cinco veces mayor que la encontrada para cualquier otro tipo de uso de suelo estudiado.

Por su parte, la máxima diversidad se encontró en la milpa (según el índice de Shannon-Wiener) o la vegetación secundaria (según el índice de Simpson) (Cuadro 3). Es importante destacar que la diversidad, medida tanto por el índice de Shannon-Wiener como con el inverso de Simpson, es similar en todos los ambientes y alta (Magurran, 1988).

Cuadro 3. Estimación de la riqueza de morfotipos y su diversidad por tipo de uso de suelo. Los números resaltados corresponden a los valores mayores. BMM: Bosque mesófilo de montaña, Vs: vegetación secundaria dominada por *P. chiapensis*.

Tipo de uso de suelo	Número esperado de morfotipos	Índice de Shannon-Wiener	Inverso del Índice de Simpson
BMM	<b>1643.17</b>	3.28	16.21
Vs	345.64	3.66	<b>19.74</b>
Cafetal	325.44	3.81	17.99
Milpa	323.28	<b>3.94</b>	19.41

### 7.1.3 Potencial de inóculo.

#### 7.1.3.1 Número más probable.

En términos generales, la estimación del número de propágulos infectivos equipara al pinar y a la milpa como ambientes con el mayor número de propágulos (Figura 3), sin embargo, si se empalma esta información con los porcentajes de colonización, la vegetación secundaria dominada por *P. chiapensis* (pinar) es el tipo de uso de suelo que presenta el mayor potencial de inóculo ya que es el más consistente, para ambas variables debido a que presentó los valores más altos.

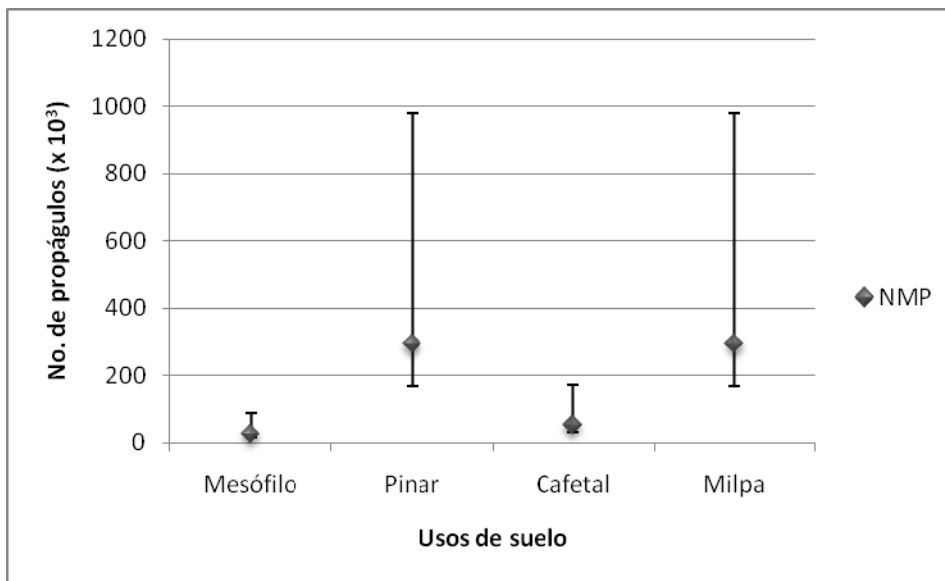


Figura 3. Estimación del número promedio de propágulos infectivos por cada tipo de uso de suelo (se grafican los intervalos de confianza al 95%).

### 7.1.3.2 Porcentajes de colonización.

Las hifas fueron las estructuras que tuvieron los porcentajes mayores, fluctuando entre 100 y 80% del porcentaje de colonización total.

Con el análisis de varianza de dos vías tanto el tipo de uso de suelo como la dilución generaron diferencias significativas en el porcentaje de colonización tanto total (Cuadro 4) como de hifas (Cuadro 5), y la interacción tipo de uso de suelo y dilución fue significativa. Los porcentajes total y de hifas se agruparon, por un lado, milpa y Bosque mesófilo de montaña y, por el otro, con los valores mayores, la vegetación secundaria dominada por *P. chiapensis* y cafetal (Figuras 4). También el factor dilución generó diferencias significativas en ambas variables de respuesta, los valores mayores correspondieron a las menores diluciones de suelo (Figura 5). Asimismo, la interacción tipo de uso de suelo y dilución fue significativa, en general, tanto el bosque mesófilo como la milpa tuvieron bajos porcentajes de colonización tanto total como de hifas a diluciones altas mientras que vegetación secundaria dominada por *P. chiapensis* y cafetal con diluciones bajas tuvieron los valores más altos (Figura 6).

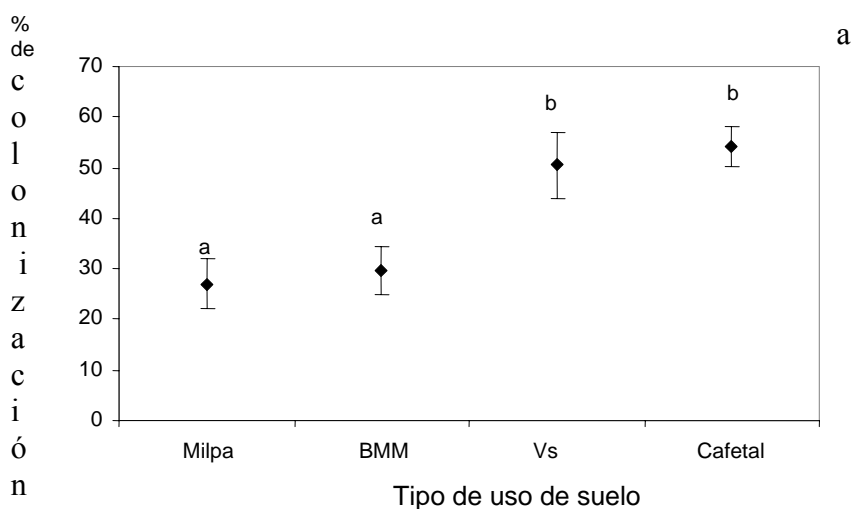


Cuadro 4. Resumen del análisis de varianza de dos vías para el porcentaje de colonización total.

	Suma C	gl	CM	F	p
Uso de suelo	1.30082	3	0.43361	11.3527	0.000006
Dilución	4.66664	4	1.16666	30.5456	0.000000
Uso de suelo*Dilución	1.65536	12	0.13795	3.6117	0.000490
Error	2.17706	57	0.03819		

Cuadro 5. Resumen del análisis de varianza de dos vías para el porcentaje de colonización de hifas.

	Suma C	gl	CM	F	p
Uso de suelo	0.97735	3	0.32578	11.6813	0.000005
Dilución	2.50337	4	0.62584	22.4403	0.000000
Uso de suelo*Dilución	1.28817	12	0.10735	3.8491	0.000260
Error	1.58969	57	0.02789		



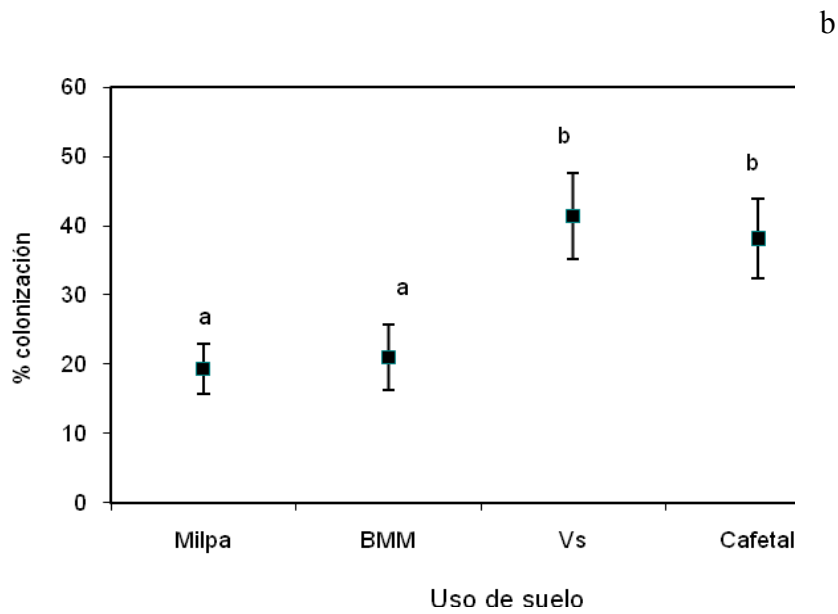
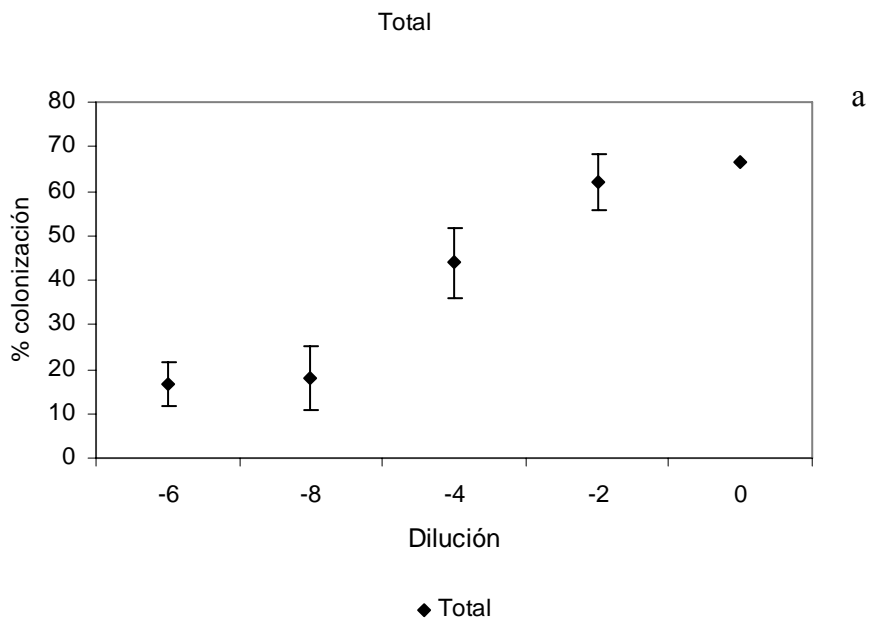


Figura 4. Porcentaje de colonización total (a) y de hifas (b) promedio (+ E.E.) para cada tipo de uso de suelo.



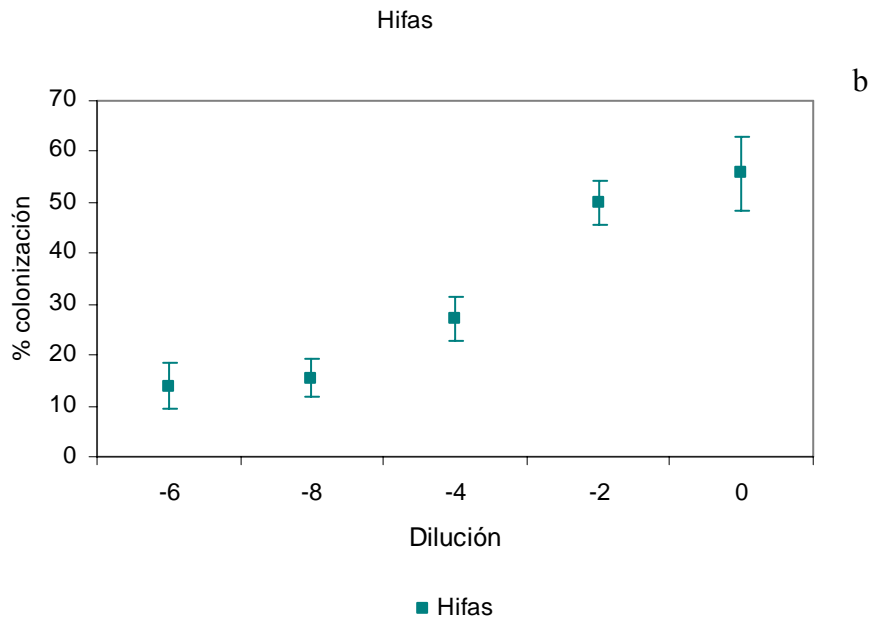
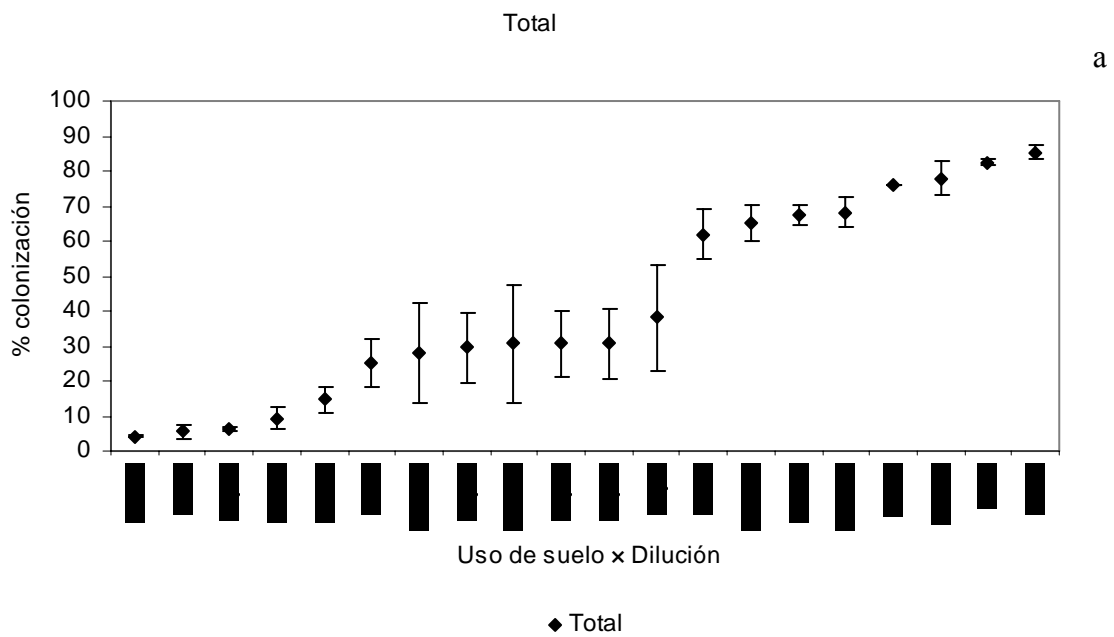


Figura 5. Porcentaje de colonización promedio ( $\pm 1$ E.E.) total (a) y de hifas (b) por cada una de las diluciones que se analizaron.



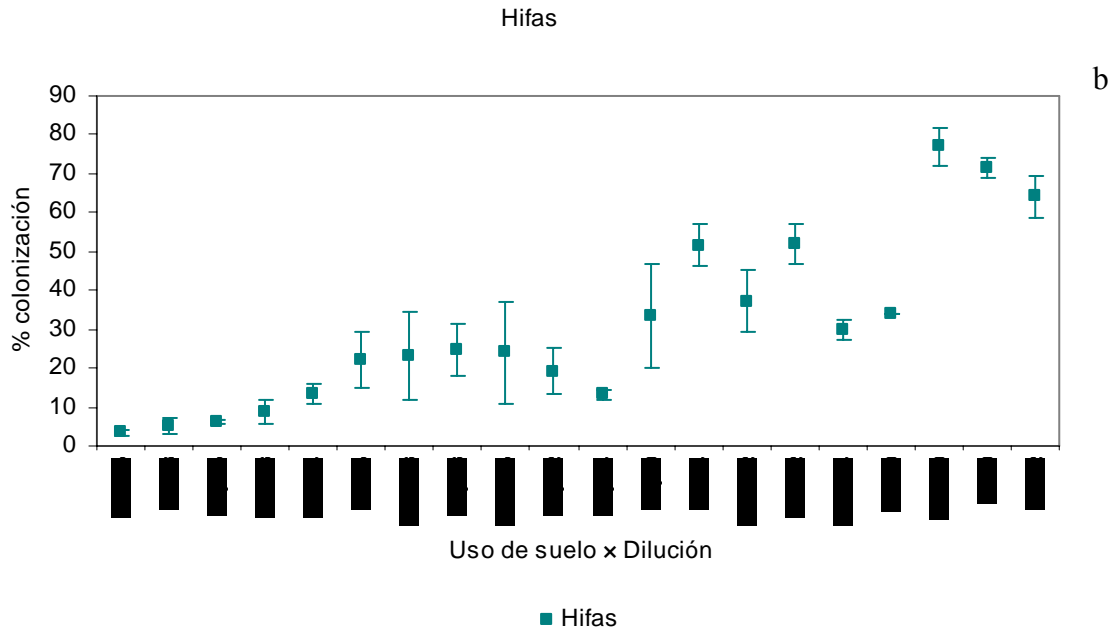


Figura 6. Porcentaje de colonización promedio ( $\pm$  1E.E.) total (a) y de hifas (b) en función de la interacción uso de suelo  $\times$  dilución.

#### 7.1.4 Comparaciones de la composición de morfotipos de hongos micorrizógenos arbusculares entre tipos de uso de suelo diferentes

En general, las similitudes fueron bajas sin importar el índice considerado, aunque con el índice de Bray-Curtis fue mucho menor.

Considerando el índice de similitud de Sørensen, las comunidades de HMA con mayor número de morfotipos en común son las del BMM y la Vs (0.42), posteriormente el cafetal y la milpa presentaron aproximadamente 36% de similitud. La menor similitud fue entre BMM y cafetal. Con respecto al índice de Bray-Curtis, es decir, al considerar también la abundancia de cada morfotipo, la menor similitud sí correspondió a la comparación entre BMM y cafetal, sin embargo, la máxima similitud estuvo entre Vs y

cafetal (Cuadro 6). Lo que indica claramente que la vegetación secundaria comparte más especies con el cafetal que con cualquier otro tipo de uso de suelo si consideramos qué tantas esporas presenta cada morfotipo, pero si sólo consideramos la presencia o ausencia, la vegetación secundaria sí comparte casi el 50% de sus morfotipos con el BMM, caso que sí coincide con lo esperado, dado que el bosque inicial del que se originó la vegetación secundaria fue el bosque mesófilo.

Cuadro 6. Valores de los índices de similitud de Sørensen (en la sección superior derecha) y de los índices de Bray-Curtis (en la sección inferior izquierda). Se resaltan en negritas los valores mayores.

Tipo de uso de suelo	BMM	Vs	Cafetal	Milpa
<b>BMM</b>		<b>0.42</b>	0.258	0.323
Vs	0.186	--	0.294	0.319
<b>Cafetal</b>	0.085	<b>0.234</b>	--	0.359
<b>Milpa</b>	0.1	0.217	0.198	--

## 7.2 Hongos macroscópicos.

### 7.2.2 Estructura de la comunidad de hongos macroscópicos.

#### Listado 1. Hongos macromicetos encontrados en el área de estudio en dos muestreos realizados en septiembre de 2006 y 2007.

e= especie micorrizógena, g= género con especies micorrizógenas, gs= género con especies saprobias, l= lignícola, p=parásito s=especie saprofítica ?= desconocido; C, Me, Vs, indican el tipo de uso de suelo en el que fueron recolectados los ejemplares, es decir, cafetales, Bosque mesófilo de montaña y Vegetación secundaria dominada por *P. chiapensis*.

Taxa	Tipo de uso de suelo	Grupo trófico
<i>Amanita</i> gpo. <i>fulva</i>	Vs	g
<i>Amanita</i> gpo. <i>gemata</i>	Vs	e
<i>Amanita</i> gpo. <i>virosa</i>	Vs	e
<i>Amanita</i> sec. <i>vaginata</i>	Me	e

<i>Amanita gpo. vaginata</i>	Vs	e
<i>Amanita sp.</i>	Me	g
<i>Boletus sp.</i>	Vs	g
<i>Boletus sp.</i>	Me	g
<i>Calostoma cinnabarina</i>	Vs	?
<i>Camarophyllus sp.</i>	Me	g
<i>Clathrus sp.</i>	Me	gS
<i>Clavulina sp.</i>	Me	s
<i>Clavulinopsis sp.</i>	Me	?
<i>Clitocybe sp.</i>	C	g
<i>Collybia aff. kuhnerana</i>	Me	s
<i>Coltricia cinnamomea</i>	Vs	e
<i>Cookeina sulcipes</i>	Me	l
<i>Cortinarius sp.1</i>	Me	g
<i>Cortinarius sp.2</i>	Me	g
<i>Cortinarius sp.3</i>	Me	g
<i>Cortinarius sp.4</i>	Vs	g
<i>Dermocybe sp.</i>	Me	g
<i>Gymnopus sp.</i>	Me	s
<i>Gyrodon sp.</i>	C	g
<i>Hydnopolyporus palmatus</i>	C	g
<i>Hydnum sp.</i>	Vs	?
<i>Hygrophorus sp.</i>	Vs	g
<i>Hypholoma sp.</i>	Me	s
<i>Hyphomyces sp.</i>	Vs	p
<i>Inocybe rimosa</i>	Me	g
<i>Inocybe terricola?</i>	Me	g
<i>Lactarius sp.</i>	Me	g
<i>Laccaria laccata</i>	Vs	e
<i>Leotia sp.</i>	Vs	g
<i>Marasmius</i>	Vs	s
<i>Mycena diosma</i>	Me	s
<i>Mycena aff. pura</i>	Vs	s
<i>Mycena sp1.</i>	Vs	gS
<i>Mycena sp2.</i>	Me	gS
<i>Omphalina sp.</i>	C	s
<i>Paxillus atrotomentosus</i>	Me	e
<i>Paxillus atrotomentosus</i>	Vs	e
<i>Pleurocybella porrigens</i>	Me	s
<i>Pluteus sp.</i>	Me	s
<i>Ramaria sp.</i>	Me	g
<i>Rhodocollybia butyracea</i>	C	e
<i>Russula aff. cianoxanta</i>	Vs	g
<i>Russula aff. delica</i>	Vs	g
<i>Russula aff. grisea</i>	Vs	g
<i>Russula aff. mexicanna</i>	Vs	g
<i>Russula aff. nigricans</i>	Vs	g
<i>Russula aff. sororia</i>	Vs	g
<i>Russula aff. xerampelina</i>	Vs	g
<i>Russula sp.1</i>	Me	g

<i>Russula</i> sp.2	Vs	g
<i>Siullus</i> sp.	Vs	g
<i>Strobilomyces confusus</i>	Vs	g
<i>Thelephora</i> sp.	Me	g
<i>Thelephora terrestris</i>	Me	e
<i>Trichoglossum</i> aff. <i>hirsutum</i>	Vs	?
<i>Tylopilus</i> sp.	Me	g
<i>Xerocomus crisenterum</i>	Vs	g
<i>Xerocomus</i> sp.	Vs	g

En cuanto a la distribución de los taxa identificados en los tipos de uso de suelo encontramos que el 44% fueron recolectados en fragmentos pertenecientes a BMM, el 48% se encontraron en fragmentos de Vs y el resto es decir el 8% fueron encontrados en cafetales.

De los 63 taxa identificados en estas colectas 43% fueron reportados por Cifuentes *et al.* (1993) presentes en el parque ecológico estatal Omiltemi, Chilpancingo, Guerrero, en dicho año, estaban presentes mosaicos de vegetación constituidos por Bosque de abetos y cipreses, BMM, Bosque de encino, Bosque de pino encino, Bosque de pino y vegetación secundaria. Dentro de los taxa identificados 52% pertenecen a géneros con especies micorrizógenas, 16% pertenecen a especies ectomicorrizógenas afines; por lo que estos dos grupos suman un 68% de taxa identificados probablemente micorrizógenos. En el grupo trófico de los saprobios encontramos a 16% de los taxa identificados a nivel de especie y el 5% a nivel de género; por lo que tenemos un total de 21% representados en este grupo trófico; el 6% pertenece a grupos tróficos desconocidos. El resto, es decir, aproximadamente el 5% de los taxa pertenecen a los grupos tróficos lignícolas o parasíticos.

### 7.2.3 Estimaciones de riqueza y diversidad de hongos macroscópicos.

Para este apartado solo se consideraron los datos correspondientes a la colecta efectuada en septiembre de 2007. En términos de la riqueza esperada de hongos macroscópicos, el cafetal es el uso de suelo más rico seguido del pinar y al final el BMM. Y en cuanto a la diversidad, el mayor índice de Shannon-Wiener fue para el cafetal mientras que el pinar y el cafetal tuvieron el índice de Simpson mayor (Cuadro 7). Es importante recordar que para todos los apartados de hongos macroscópicos y ectomicorrizógenos no se consideró a las milpas, ya que la presencia de simbiontes vegetales en este tipo de uso de suelo es nula de acuerdo con observaciones de campo; por otro lado la presencia de este tipo de ectomicorrizas en las milpas se consideró en el caso de la determinación de la incidencia en la prueba realizada con *P. chiapensis*, y atribuimos dicha incidencia al transporte de estructuras micorrizógenas o a otras causas como se establece en la discusión de la presente tesis, y consideramos que en el mencionado uso de suelo, milpas, el papel de las ectomicorrizas es muy bajo cuando estos terrenos son manejados para producir maíz.

Cuadro 7. Estimación de la riqueza de morfotipos de hongos macroscópicos y su diversidad por tipo de uso de suelo. Los números resaltados corresponden a los valores mayores. BMM: Bosque mesófilo de montaña, Vs: vegetación secundaria dominada por *P. chiapensis*.

Tipos de usos de suelo	Estimación del número de especies	Índice de Shannon-Wiener	Inverso del índice de Simpson
BMM	162.07	1.95	5.89
Vs	360.17	2.34	6.47
Cafetal	<b>641.33</b>	<b>2.67</b>	<b>6.45</b>



En el caso de los hongos macroscópicos, incluyendo los especímenes colectados en el año 2007 todos los usos de suelo analizados, se encontró que el 88% de las especies presentaron de uno a 10 esporomas, el 9.6% presentó entre 11 y 42 esporomas y sólo una especie presentó más de 100 esporomas.

En el caso de las abundancias para el mismo caso de hongos mencionado en el párrafo anterior, encontramos que por uso de suelo, el cafetal presentó más esporomas; correspondientes a seis especies, en los fragmentos de vegetación secundaria dominados por *P. chiapensis* se encontró el 4.6% de los esporomas distribuidos en siete especies y, finalmente, los fragmentos de BMM presentaron el 42.8% de los esporomas distribuidos en el 75% de las especies presentes totales. No se encontraron especies comunes entre los usos de suelo.

### **7.3 Hongos ectomicorrizógenos.**

#### **7.3.1 Incidencia de colonización.**

Se comprobó la presencia de inóculo ectomicorrizógeno en los cuatro tipos de uso de suelo. Del total de unidades (48) el 43% de las unidades muestrales presentó colonización en las raíces de plántulas de *P. chiapensis*. Los porcentajes de muestras colonizadas para esta prueba fueron BMM 50%, y el resto de los usos de suelo 41.66%.

#### **7.3.2. Riqueza y diversidad de morfotipos de hongos.**

##### **7.3.2.1 Datos observados.**

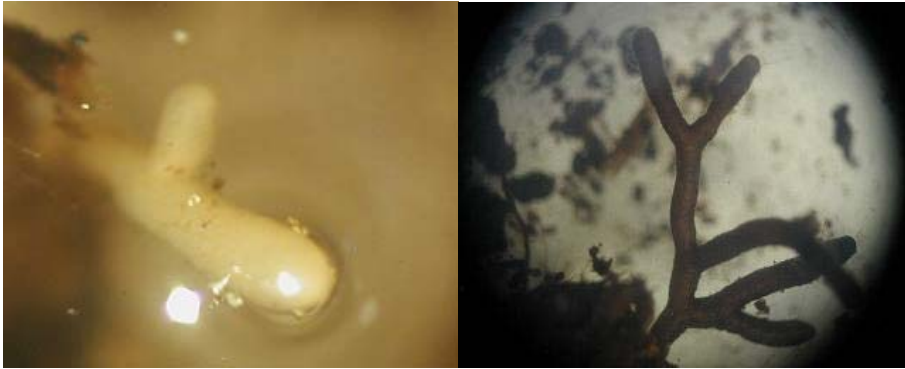
En el caso de los morfotipos de hongos ectomicorrizógenos encontrados en puntas de raíces extraídas de plantas pertenecientes a los diferentes tipos de uso de suelo, sólo

cuatro morfotipos, es decir, aproximadamente el 5% ocuparon el 83.2% del total de las puntas micorrizadas, condensando todos los tipos de uso de suelo. El 60% de los morfotipos presentaron entre una y 10 puntas micorrizadas, por lo que el resto, es decir, el 35% de los morfotipos presentaron entre 11 y 91 puntas micorrizadas, ocupando el 12.9% del total de puntas presentes en el muestreo realizado.

Los tipos de uso de suelo se ordenaron de acuerdo con el número de morfotipos presentes en ellos, en orden descendiente, BMM, Vs y cafetales, con 54, 49 y 13 morfotipos, respectivamente.

El 55.6% de los morfotipos se registraron únicamente en un solo uso de suelo, cerca del 40% en dos usos de suelo y el 5.1 % de los morfotipos aparecieron en los tres usos de suelo. Los morfotipos presentes en los tres tipos de uso de suelo fueron los siguientes, 3, 18, 35 y 40 con 1218, 954, 10 y 13 puntas micorrizadas al condensar los totales por cada tipo de uso de suelo. Por otro lado los morfotipos más abundantes fueron los morfotipos 3, 4, 38 y 62 con 46, 1035, 74 y 60 puntas micorrizadas respectivamente, registrados en BMM; en el caso de los morfotipos más abundantes de Vs fueron el 3, 4 y 18 con 258, 261 y 247 puntas micorrizadas en este tipo de uso de suelo; finalmente en el caso de los cafetales encontramos como más abundantes a los morfotipos 3, 11 y 18 con 814, 1080 y 676, respectivamente, algunos de los ejemplos de los morfotipos encontrados y fotografiados se muestran a continuación en la Serie 2.





## Serie 2 Morfotipos de hongos ectomicorrizógenos.

### 7.3.2.2 Datos estimados.

De manera general, tanto la riqueza estimada como los índices de diversidad son mucho menores que en el caso de los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA).

El BMM presentó la mayor riqueza estimada, al igual que en el caso de los HMA, siendo los cafetales los del menor valor. Sin embargo, tanto para el índice de Shannon-Wiener como para el índice de Simpson el cafetal fue el de mayor valor (Cuadro 8), hecho que no se dio en los HMA, aunque los valores del cafetal siempre fueron de los más altos.

Cuadro 8. Riqueza estimada y diversidad de hongos ectomicorrizógenos por uso de suelo.

Tipo de uso de suelo	Estimación de la riqueza de morfotipos	Índice de Shannon-Wiener	Índice de Simpson
BMM	<b>437.05</b>	1.87	3.99
Vs	234.62	2.04	4.5
Cafetal	104.843333	<b>2.22</b>	<b>5.67</b>

### 7.3.3 Comparación de la composición y abundancia de morfotipos de hongos ectomicorrizógenos entre usos de suelo.

De manera general, los valores de similitud de ambos índices fueron bajos, sin embargo, destacan el 60% y casi el 50% entre vegetación secundaria dominada por *P. chiapensis* y BMM, lo que reafirma fuertemente la semejanza de morfotipos entre estos dos tipos de uso de suelo dado que la vegetación secundaria se deriva del bosque mesófilo y es un resultado semejante al obtenido para los HMA (Cuadro 9).

Cuadro 9. Valores de los índices de similitud de Sørensen (en la sección superior derecha) y de los índices de Bray-Curtis (en la sección inferior izquierda). Se resaltan en negritas los valores mayores.

Tipo de uso de suelo	BMM	Vs	Cafetal
BMM		<b>0.602</b>	0.179
Vs	<b>0.411</b>		0.161
Cafetal	0.086	0.284	

## 8 Discusión.

La presencia de los dos tipos de hongos micorrizógenos estudiados experimentalmente en suelos de los municipios San Miguel Talea de Castro y San Juan Juquila Vijanos en la Sierra Norte de Oaxaca se pudo comprobar con distintas pruebas; la coexistencia de los dos tipos de hongos micorrizógenos en un mismo ambiente o incluso en una misma muestra de suelo se ha demostrado en otros estudios por lo que podemos decir que las dinámicas ecológicas que ocurren entre estos hongos es una tendencia que se da al menos en ambientes con alta diversidad o en ambientes en los que coexisten los diferentes simbioses, tanto vegetales como fúngicos (Moeyerson *et al.*, 1998).

Para el caso de los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA), un análisis global de los resultados coloca a los suelos provenientes de fragmentos de vegetación secundaria, de cafetales y de milpas como más exitosos en cuanto a su potencial de micorrización que aquéllos provenientes del BMM, contrario a lo esperado, dado que a mayor diversidad vegetal se esperaba un mayor potencial de inoculación debido a que hay una mayor riqueza de especies que pueden colonizar a los diferentes hospederos (Kernaghan, 2005). Es importante señalar que lo que se evaluó en estas pruebas fue la capacidad de micorrización de los suelos y no necesariamente esta capacidad debe reflejar la eficiencia de la micorrización en términos de variables de crecimiento vegetal o de la interconexión de plantas y transporte de nutrimentos, aunque es el inicio para la valoración de la calidad de regeneración de estos sitios.

El hecho de que los suelos más manejados hayan tenido respuestas micorrícicas tan altas indica que los manejos de suelo a los que se han visto sujetos estos suelos no son tan dañinos como en algunos casos se ha reportado (Oehl *et al.*, 2003), probablemente porque la mayoría de los suelos se han manipulado con manejos de bajos insumos, sin tractores, fertilizantes o herbicidas aplicados continuamente, ello hace que la interacción que se establece con las especies vegetales existentes no se rompa completamente si no que solamente se vea modificada levemente, sustituyendo un hospedero por otro, como sería el caso de la sustitución del BMM por maíz; aún más, tal vez tal sustitución favorezca a ciertas especies fúngicas ya que muchas de las plantas sembradas son fuertemente micotróficas y los HMA encuentran respuestas más afines a su presencia, lo que repercute en una mayor recepción de carbohidratos, mayor transferencia de nutrientes y mayor expansión fúngica.

Sólo en el caso de las puntas de raíces ectomicorrizadas hubo una relación directa entre la reducción de la diversidad vegetal y la subsecuente reducción de la riqueza de hongos micorrizógenos, partiendo del supuesto de que el BMM es el más diverso en vegetación, después la vegetación secundaria y finalmente los cafetales. Esto puede deberse a que los hongos ectomicorrizógenos (HE) son más específicos y desafortunadamente muchas de las especies maderables del bosque mesófilo son ectomicorrícicas por lo que si desaparecen estas especies vegetales, también lo hacen los HE asociados específicamente a ellas y, por ello, la relación entre la diversidad vegetal y tipo de uso de suelo es un patrón consistente para estos hongos, así como la producción de puntas micorrizadas, valoración indirecta del potencial de micorrización de los HE.

Otro aspecto notable es que en todos los usos de suelo, la comunidad de HMA basada en la información de los morfotipos se presenta como una metacomunidad compuesta de comunidades que tienen una estructura propia, al presentarse una mayor proporción de morfotipos exclusivos que los compartidos entre dos, tres o cuatro tipos de usos de suelo; contrariamente a lo que se esperaría, pocos morfotipos exclusivos y marcadamente más morfotipos compartidos entre los sitios, como se ha observado en algunos trabajos (Oehl *et al.*, 2003; Franke-Snyder *et al.*, 2001). Esto puede estar asociado a la estructura de la comunidad vegetal respectiva de cada ambiente y a las variables edáficas características de cada tipo de uso de suelo (Kernaghan, 2005).

Este patrón no se presentó, debido a que en las milpas y en los cafetales la persistencia y actividad del inóculo micorrícico se posibilita dado que las plantas que dominan en dichos ecosistemas modificados siguen siendo micotróficas, pero en el caso de los

simbiontes vegetales ectomicorrizógenos sí ocurren reducciones substanciales al modificar los ambientes originales, dado que al limpiar los terrenos para su posterior uso como milpas o cafetales, se excluyen a especies ectomicorrizógenas abundantes, particularmente a *P.chiapensis* y a varias especies del género *Quercus*. Este particular resultado también ha sido encontrado en otros estudios de reducción de la diversidad ectomicorrizógena en sitios con diferente uso de suelo (Hagerman *et al.*, 1999).

En lo referente a los HMA en características como el número de morfotipos exclusivos y totales por uso de suelo, no se presentaron diferencias destacables, por lo que parece ser que el impacto del uso de suelo no tiene un efecto negativo considerando la riqueza de morfotipos. Resultados similares han sido encontrados en trabajos en los que se ha utilizado a otros tipos de vegetación como comunidades originales y en los que se ha comparado la diversidad entre ambientes con diferentes historias de uso de suelo (Zhang *et al.*, 2004).

Siguiendo con el caso de los HMA, tenemos que más que el número de esporas, la eficiencia de las especies presentes en cada tipo de uso de suelo es lo que determinará un potencial de micorrización mayor ya que no se presentaron concordancias, en ningún caso, entre el número de esporas y los porcentajes de colonización y el número más probable de propágulos infectivos al utilizar al sorgo como planta trampa.

Los conteos de esporas de HMA en 100 g de suelo presentaron valores intermedios de los encontrados en otros trabajos (Camargo-Ricalde y Dhillion, 2003; Mohammad *et al.*, 2003; Diagne *et al.*, 2001; Zhao *et al.*, 2001; Zangaro *et al.*, 2000; Guadarrama y Álvarez-Sánchez, 1999; Cuenca *et al.*, 1998; Rashid *et al.*, 1997; Brundrett y Abbott,



1995; Mohankumar y Mhadevan, 1988; Miller *et al.*, 1985) por lo que se puede inferir que la esporulación es normal en estos ecosistemas.

Kernaghan (2005) propone una conexión directa entre la diversidad y la productividad de las comunidades micorrizógenas, en términos de esporas y micelio; basándose en relaciones vistas por otros autores en comunidades biológicas (Tilman *et al.*, 1996; Naeem *et al.*, 1994), lo anterior, de acuerdo con el mismo autor debe traducirse en mayores potenciales de inóculo, tasas de colonización de raíces y respuestas en el crecimiento de las plantas en comunidades más diversas, esta relación tuvo una leve concordancia con nuestros datos si nos referimos exclusivamente a la cantidad de morfotipos de esporas de HMA y los potenciales de micorrización de suelos de fragmentos con vegetación secundaria, cafetales y milpas evaluados con tres pruebas distintas, pero al considerar los índices de diversidad de las puntas de raíces ectomicorrizadas, no se puede apreciar la existencia de dicha relación ya que no contamos con datos experimentales adicionales de los potenciales de micorrización de los hongos ectomicorrizógenos, esto se intentó realizar de manera experimental pero las pruebas que realizamos no se llevaron a cabo exitosamente ya que tuvimos fuerte contaminación con otro tipo de hongos en todas nuestras unidades experimentales.

La baja incidencia de raíces ectomicorrizadas encontradas en otro estudio, en el que se analizaron muestras de raíces de plantas pertenecientes a un BMM del sur de Ecuador (Kottke *et al.*, 2004) contrasta con nuestros datos, en los que encontramos presencia de muchos morfotipos de ectomicorrizas. Esto concuerda con los patrones biogeográficos característicos de las ectomicorrizas, que muestran una marcada distribución norte-sur

en el continente americano, presentándose afinidades nórdicas de ambos grupos de simbioses (Halling, 2001).

Con nuestros experimentos sabemos que la micorrización de *P. chiapensis* y *Sorgum vulgare* puede ocurrir con claras evidencias al final del tercer mes, estos datos de ninguna manera pueden ser extrapolables a todas las especies vegetales nativas que podrían ser micorrizadas con inóculo proveniente de los suelos de estudio, porque todas nuestras pruebas de micorrización se realizaron en condiciones artificiales en invernaderos, y porque se espera una respuesta particular para cada especie o incluso para cada individuo genéticamente distinto, sin embargo, los periodos de tres meses de micorrización de plantas “modelo” sirven como posibles referentes de comparación para el periodo de respuesta de micorrización de otras plantas.

Como se puede observar en distintos trabajos, los diferentes usos de suelo de terrenos dentro de una misma área pueden afectar de manera diferencial a las comunidades de hongos micorrizógenos, alterando la diversidad de ellos y la disponibilidad de inóculo activo (Valdés *et al.*, 2003; Oehl *et al.*, 2003). Estas prácticas tienen niveles de incidencia en las diferentes variables de las comunidades fúngicas micorrizógenas dependiendo de la resistencia de estas a los disturbios, de la intensidad y cualidades de los distintos usos de suelo y también de la resiliencia de dichas comunidades.

En la modernidad es remarcable la necesidad de tener prácticas productivas que preserven la mayor parte de la biodiversidad posible de los diferentes ecosistemas del planeta, es evidente, incluso en la literatura científica (Moreira *et al.*, 2007; Oehl *et al.* 2003; Richter *et al.*, 2002; Franke-Snyder *et al.*, 2001; Ingham y Wilson, 1999 y

Jasper *et al.*, 1991) que hay prácticas que amenazan o disminuyen dicha biodiversidad, pero otras prácticas tienen efectos menores, nulos o incluso favorecedores de la biodiversidad (Zhang, *et al.*, 2004; Franke-Snyder, 2001; Ingham y Wilson, 1999). La preservación de prácticas productivas favorecedoras de la biodiversidad a largo plazo, permitirá una cultura conservacionista exitosa, mientras que la perpetuación de prácticas productivas nocivas a la biodiversidad disminuirá la posibilidad de enfrentarse a los retos que presentarán las décadas que se nos avecinan en cuanto a la conservación de los recursos naturales.

En lo referente a las pruebas de número más probable, las altísimas estimaciones de propágulos infectivos sugieren altos potenciales de micorrización de todos los suelos estudiados. Si consideramos los órdenes de magnitud de las esporas obtenidas en la sección de caracterización de las comunidades fúngicas de HMA y la poca cantidad de raíces presentadas en las muestras de suelo, deducimos que el tipo de inóculo de la prueba que tuvo mejor éxito en la colonización de las plantas micorrizadas fue el micelio, esto concuerda con datos de Klironomos y Hart (2002) en los que se sostiene que el micelio micorrizógeno de algunas especies puede resistir a disturbios severos, como el tamizado, este último proceso pudo haber fragmentado las redes de micelio presentes en las muestras de suelo e incrementado el potencial de inóculo natural de los suelos estudiados, sin embargo en una posible aplicación que se plantea más adelante en esta discusión, esto puede resultar fundamental en la obtención de una mayor cantidad de unidades experimentales micorrizadas si se obtienen medidas directas de la cantidad de fragmentación que es susceptible de soportar por un suelo particular y de la cantidad de esporas que hay en cada uno de ellos, esto implica cierta complejidad metodológica pero sería posible realizar pruebas de micorrización que aseguren la

colonización de material vegetal a partir de esporas, micelio fragmentado, raíces micorrizadas y probablemente otras estructuras susceptibles de dar origen a colonización micorrizógena.

Un siguiente paso de la presente investigación que podría resolver algunos de los problemas de pobreza económica de las familias del área de estudio sería la formación de pequeñas empresas productoras de inóculo micorrizógeno y plantas micorrizadas, inquietud que surge de la observación de niveles favorables de micorrización comprobados en distintos experimentos de este estudio en los ambientes estudiados y de la baja cantidad de compañías productoras de inóculo micorrizógeno arbuscular a nivel mundial que según Gianinazzi y Vosatka (2004) incluyen solo a 33 a nivel mundial con dos casos en América del sur y 21 en Norteamérica. Estos mismos autores sostienen que los métodos para utilizar estos recursos naturales siguen en proceso de investigación por lo que el autor de la presente tesis remarca que el potencial de uso económico sostenible de estos suelos en la producción de inóculo micorrizógeno es una posibilidad que debería ser sujeta a consideraciones académicas, económicas y sociales en el área de estudio.

Entre los alcances que consideramos importantes en este estudio encontramos la coexistencia de las micorrizas arbusculares, ectomicorrizas; al menos las micorrizas ericoide, orquidioide (Blanco, 2001) y probablemente de otros tipos de micorrizas en el Bosque mesófilo de montaña, esto puede sugerir que los hongos micorrizógenos en general son piezas clave en el funcionamiento de este tipo de bosques. También encontramos experimentalmente que dependiendo del tipo de simbionte ya sea arbuscular o ectomicorrizógeno, o dependiendo del tipo de evaluación que sea realizada

de las estructuras micorrizógenas, la comunidad misma puede parecer responder de manera tanto positiva como negativa o nulamente a los cambios de la cobertura vegetal que se realizan en el área de estudio, aunque el efecto de la reducción de la cantidad de morfotipos de puntas radicales ectomicorrizadas no se comprende en la totalidad debido a que cuando son abandonados los terrenos uno de los elementos que domina en la vegetación secundaria es una planta leñosa que requiere del inóculo ectomicorrizógeno, es decir *P. chiapensis*. Una posible explicación de este fenómeno puede ser la persistencia del inóculo ectomicorrizógeno a lo largo de los años en los terrenos posteriormente a su aclareo, dado que en nuestra primera prueba se comprobó la existencia del inóculo ectomicorrizógeno en los cuatro ambientes estudiados, otra posible explicación podría ser la mayor eficacia de este tipo de inóculo en la colonización de nuevas plantas en estos ambientes ya que como lo demostramos con varias pruebas, ambos tipos de inóculo micorrizógenos coexisten en esta área, lamentablemente no podemos concluir tajantemente acerca de este fenómeno con nuestros datos. Pero se encontró que sería posible diseñar experimentos en los que se pueda comprender de una manera más clara la exitosa colonización de *P. chiapensis* en el área de estudio.

Una manera posible de determinar que es lo que ocurre con la eficiencia de colonización de hongos micorrizógenos de los dos tipos estudiados sería a partir de transplantar plántulas no micorrizadas a cada uno de los suelos en cuestión, colocando varias especies de plántulas micotróficas arbusculares por un lado y plántulas micotróficas ectomicorrizógenas, con la posterior revisión de la incidencia de colonización de estos tipos de micorrizas *in situ*, un experimento de esta naturaleza se trató de llevar a cabo pero no se logró por las fuertes lluvias que se presentaron en el mes de octubre de 2005

lo que ocasionó que una cantidad inusualmente excesiva de hojas y ramas, cayera sobre nuestras plántulas sepultándolas e impidiendo que se establecieran.

## **9 Conclusiones.**

### **Hongos micorrizógenos arbusculares.**

En términos de la diversidad los HMA no presentaron diferencias muy marcadas entre los tipos de uso de suelo vistas en los números de morfotipos, también como lo indican ambos índices de diversidad utilizados.

Se presentaron diferencias significativas al comparar los números de esporas entre las cuatro historias de uso de suelo siendo más abundantes en las milpas y en los cafetales.

Los mayores niveles en el número más probable de propágulos micorrizógenos se presentaron en las milpas y en la vegetación secundaria dominada por *Pinus chiapensis*.

Se presentaron diferencias significativas al comparar los potenciales de micorrización evaluados en términos del porcentaje de colonización total y de hifas, con vegetación secundaria dominada por *Pinus chiapensis* y cafetales como más altos, al igual que las diluciones más bajas. Los valores más altos correspondieron a las diluciones bajas tanto en cafetal como vegetación secundaria dominada por *Pinus chiapensis*.

Por lo anterior, no se puede concluir que las prácticas de uso de suelo y vegetación en el área de estudio generen efectos negativos en el desempeño de estos hongos.

### **Hongos ectomicorrizógenos.**

En este grupo de hongos sí se presentaron efectos negativos a los cambios de uso de suelo y vegetación presentes en el área de estudio, sobre todo por la eliminación de los hospederos vegetales.

Los hongos ectomicorrizógenos presentaron mayores diferencias en cuanto a los índices de diversidad.

## **10 Perspectivas.**

Entre las líneas de investigación que se podrían desprender de este trabajo encontramos la profundización de temas ecológicos como la coexistencia de comunidades micorrizógenas con diferentes tipos de simbiontes tanto a nivel macroecológico como a nivel microcosmos, la revisión de la posibilidad de mejorar los niveles económicos de los pobladores locales del área de estudios mediante microempresas productoras de plantas micorrizadas como de inóculo micorrizógeno con la finalidad de incrementar los niveles de productividad y conservación a nivel regional, partiendo de principios demográficos biológicos sustentados en estudios puntuales sobre las especies que se trabajarían y sobre una cultura de aprovechamiento y conservación sostenible.

Asimismo, consideramos importante incrementar la red de interacciones de los distintos sectores sociales involucrados en la propiedad y estudio de esta región ya que se ha observado que dichas interacciones son escasas, p.e. entre el personal estudiantil y de investigadores de planta de diferentes centros con los dueños legítimos de los terrenos de la región se da en una dinámica de poca o nula reciprocidad e intercambio de experiencias y conocimientos, por otro lado también encontramos manifiesto el interés de conocer a mayor detalle los recursos naturales por parte de las comunidades

indígenas y el bajo aprovechamiento de herramientas tecnológicas actuales para mantener y reforzar las prácticas de conocimiento, aprovechamiento y conservación de sus recursos naturales. Una estrategia amplia en este respecto debería de incluir la microregionalización de zonas prioritarias para la conservación, zonas de amortiguamiento, zonas de aprovechamiento sostenible y zonas de restauración ecológica, principalmente.

La posibilidad de realizar estudios *in situ* y *ex situ* más puntuales permitiría aclarar en mayor grado las interacciones ecológicas que ocurren en el BMM, p.e. mejorando la comprensión de los potenciales de micorrización y del estatus trófico de algunos de los hongos macroscópicos encontrados y de posibles especies desconocidas dentro de la Sierra Norte de Oaxaca, con la posibilidad de extrapolar o adaptar resultados y experiencias a otras regiones del país que presenten similitudes con el área estudiada.

Un aspecto fundamental que deriva de la revisión de literatura del presente estudio es la necesidad urgente de realizar una estrategia de conservación de los remanentes de BMM a nivel nacional en la que se incorpore la mayor cantidad de información posible para ubicar todos los sitios que actualmente presentan BMM, determinando sitios prioritarios de conservación con la ayuda de tecnologías modernas disponibles que permitan clasificar a todas las localidades donde se encuentre este tipo de vegetación de acuerdo con: 1) la susceptibilidad a los cambios climáticos reales y probables locales, 2) la situación de protección efectiva a nivel federal, estatal y municipal, 3) el éxito efectivo de experiencias de conservación, y 4) las posibilidades reales de restauración ecológica, principalmente.



Con la intención de realizar caracterizaciones con mayor especificidad, recomendaríamos hacer análisis más puntuales de las comunidades en cada parcela estudiada de manera que los datos de las comunidades no fueran condensados como en nuestro caso, con ello se podría tener información de la diversidad de morfotipos encontrados en cada una de ellas, esto no estaba dentro de nuestros objetivos pero para investigaciones ulteriores ayudaría a determinar si los patrones que encontramos al condensar los datos ocurren de manera particular en cada parcela estudiada o si son producto de la condensación, nuestro interés fue establecer caracterizaciones a nivel regional, a nivel de paisaje y a nivel de ambientes naturales y modificados por lo que no se realizaron los análisis particulares de cada parcela, como en otros casos, se habría requerido de mayores esfuerzos y tiempos, aunque se aportarían datos adicionales importantes que consideramos sustanciales en estudios posteriores.

## **11 Literatura citada.**

Adelman, M.J. y Morton, J.B. 1985. Variation in MPN`s with interactions between native VAM fungi, host, and soils. En: Proceedings of the 6<sup>th</sup> North American Conference on Mycorrhizae 25-29 June,1984. Bend Oregon, EU.

Adelman, M.J. y Morton, J.B. 1986. Infectivity of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi: influence of host-soil diluents combinations on MPN estimates and percentage colonization. *Soil Biology and Biochemistry* 18:77-83.

Agerer, R. 2006. Fungal relationships and structural identity of their ectomycorrhizae. *Mycological progress* 5(2):67-107.

Alexander, I., Ahmad, N., Su, L.S. 1992. The role of mycorrhizas in the regeneration of some Malaysian forest trees. *Philosophical Transactions: Biological Sciences*, Vol. 335(1275), Tropical rain forest: disturbance and recovery. pp. 379-388.

Artursson, B. y Janson, J.K. 2003. Use of bromodroxyuridine immunocapture to identify active bacteria associated with arbuscular mycorrhizal hyphae. *Applied Environmental Microbiology* 69(10):6208-6215.

Bautista, A., R.F. del Castillo y C. Gutiérrez. 2003. Patrones de desarrollo del suelo asociados con sucesión secundaria en un área originalmente ocupada por bosque mesófilo de montaña. *Ecosistemas* 3.

Bautista-Cruz, A. y del Castillo, R.F. 2005. Soil changes during succession in a tropical montane cloud forest area. *Journal of Soil Science Society of America* 69:906-914.

Baylis, G.T.S. 1969. Host treatment and spore production by *Endogone*. *New Zealand Journal of Botany* 7: 173-174.

Bethlenfalvay, G.J. y Linderman, R.G. 1992. Mycorrhizae in sustainable agriculture. American Society of Agronomy. Madison. EU.

Blanco, M.A. 2001. Análisis sucesional del bosque mesófilo en El Rincón, Sierra Norte de Oaxaca. Tesis de licenciatura. UNAM. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, México.

Boddington, C.L., Dodd, J.C., Rodriguez, A., Chavez, G.C. Mansur, I. 2000. Mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) from different genera: form, function and detection. *Plant and Soil* 226(2):131-151.

Brundrett, M.C. 1991. Mycorrhizas in natural ecosystems. En: MacFayden, A., Begon, M. y Fitter, A.H. (ed.) *Advances in ecological research*, Vol. 21. Academic Press, Londres pp. 171-313.

Brundrett, M.C. 2002. Coevolution of root and mycorrhizas of land plants. *New Phytologist* 154(2):275-304.

Brundrett, M.C. y Abbott, L.K. 1995. Mycorrhizal fungus propagules in the jarrah forest II. Spatial variability in inoculum levels. *New Phytologist* 131:461-469.

Bubb, P., May, I., Miles, L., Sayer, J. 2004. *Cloud Forest Agenda*, UNEP-WCMC, Cambridge, RU.

Buscot, F., Munch, J.C., Charcosset, J.Y., Gardes, M., Nehls, U. Hampp, R. 2000. Recent advances in exploring physiology and biodiversity of ectomycorrhizas highlight the functioning of their symbioses in ecosystems. *Federation of European Microbiological Societies, Microbiology Reviews* 24:601-614.

Byrd, D. W., Kirkpatrick, JR. T. Barker K. R. 1983. An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. *Journal of Nematology* 15(1):142-143.

Camargo-Ricalde, S.L. y Dhillion S.S. 2003. Endemic *Mimosa* species can serve as mycorrhizal “resource islands” within semiarid communities of the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico. *Mycorrhiza* 13:129-136.

Cardoso, I.M. y Kuyper, T.W. 2006. Mycorrhizas and tropical soil fertility. *Agriculture and Ecosystem Environment* 116(1-2):72-84.

Carlile, M.J., Watkinson, S.C. Gooday, G.W. 2001. The fungi. Academic Press. Gran Bretaña.

Challenger, A. 1998. Utilización y conservación de los ecosistemas terrestres de México, pasado, presente y futuro. CONABIO. México, D.F.

Chazdon, R.L., Colwell, R.K., Denslow, J.S. Guariguata, M.R. 1998. Statistical methods for estimating species richness of woody regeneration in primary and secondary rain forest of NE Costa Rica. pp 295-309 En: Dallmeier, F. y Comiskey, J.A. (eds.) Forest biodiversity research, monitoring and modeling: Conceptual background and Old World case studies. Parthenon Publishing, Paris.

Churchill, S.P., Balslev, H., Forero, E. Luteyn, J.L. 1995. Biodiversity and conservation of neotropical montane forest. The New York Botanical Garden, Nueva York.

Cifuentes, B.J., Villegas, R.M. Pérez. R.L. 1993. Hongos macroscópicos. En: Historia natural del parque ecológico estatal Omiltemi, Chilpancingo, Guerrero, Mexico. Ed. Luna. I.V. y Llorente, B.G. Ediciones técnico científicas.

Colwell, R.K. 2006. EstimateS: Statistical estimation of species richness and shared species from samples. Version 8. Persistent URL <[purl.oclc.org/estimates](http://purl.oclc.org/estimates)>.

Comisión nacional de biodiversidad. 2002. Metadata and cartography online. CONABIO, México, D.F.

Cuenca, G., De Andrade, Z. Escalante, G. 1998. Diversity of glomalean spores from natural, disturbed and revegetated communities growing on nutrient-poor tropical soils. Soil and Biological Biochemistry 30:711-719.

Dell, B. 2002. Role of mycorrhizae fungi in ecosystems. CMUJournal 1(1):47-60.

Dirzo, R. 1994. Terrestrial Ecoregions-Bajío dry forest(NT0204) En: P. Robles Gil (ed.) Mexican diversity of flora. Cemex y Sierra Madre, México.

Diagne, O., Ingleby, K., Deans J.D., Lindley D.K., Diaite, I., Neyram. 2001. Mycorrhizal inoculums potential of soils from alley cropping plots in Senegal. Forest Ecology and Management 146:35-43.

Dighton, G. 1991. Acquisition of nutrients from organic resources by mycorrhizal autothrophic plant. Cellular and Molecular life Sciences 47(4):362-369.

Driver, J.D., Holben, W.E. Rillig, M.C. 2005. Characterization of glomalin as a hyphal wall component of arbuscular mycorrhizal fungi. Soil Biology and Biochemistry 7:101-106.

Finlay, R.D. 1989. Functional aspects of phosphorus uptake and carbon translocation in incompatible ectomycorrhizal association between *Pinus sylvestris* and *Suillus grevillei* and *Boletinus cavipes*. New phytologist 112:185-192.

Finlay, R.D. 2004. Mycorrhizal fungi and their multifunctional roles. Mycologist

18:91-96.

Francis, R. y Read, D.J. 1994. The contribution of mycorrhizal fungi to determination of plant community structure. *Plant and Soil* 159(1):11-25.

Franke-Snyder, M., Douds, D.D. Jr., Galvez, L., Phillips, J.G., Wagoner, P., Drinkwater, L Morton, J. 2001. Diversity of communities of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi present in conventional versus low-input agricultural sites in eastern Pennsylvania, USA. *Applied Soil Ecology* 16:35-48.

Gemma, J.N. y Koske, R.E. 1995. Mycorrhizae in Hawaiian epiphytes. *Pacific Science* 49:175-180.

Gianinazzi, S. y Vosatka, M. 2004. Inoculum of arbuscular mycorrhizal fungi for production systems: Science meets Business. *Canadian Journal of Botany* 82(8):1264-1271.

Graham, J.H., y Miller, R.M. 2005. Mycorrhizas: Gene to function. *Plant and Soil* 274:79-100.

Guadarrama, P. y Álvarez-Sánchez, F.J. 1999. Abundance of arbuscular mycorrhizal fungi spores in different environments in a tropical rain forest, Veracruz, Mexico. *Mycorrhiza* 8:267-270.

Hagerman, S.M., Jones, M.D., Bradfield, G.E., Gillespie, M. Durall, D.M. 1999. Effects of clear-cut logging on the diversity and persistence of ectomycorrhizae at a subalpine forest. *Canadian Journal of Forest Research* 29:124-134.

Hall, I.R. 1977. Species and mycorrhizal infections of New Zeland *Endogonaceae*. *Transactions of the British Mycological Society* 68:341-356.

Halling, R.E. 2001. Ectomicorrhizae: Co-evolution, Significance and Biogeography. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 88(1):5-13.

Harley, J.L. y Smith, S.E. 1983 *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press. Londres.

Harrison, A.F. 1987. *Soil organic phosphorus*. CAB International.

He, X. y Nara, K. 2007. Element biofortification: can mycorrhizas potentially offer a more effective and sustainable pathway to curb human malnutrition? *Trends in Plant Science* 12(8):331-333.

Ingham, E.R. y Wilson, M.V. 1999. The mycorrhizal colonization of six wetland plant species at sites differing in land use history. *Mycorrhiza* 9:233-235.

Janos, D.P. 1980. Mycorrhizae influence tropical succession. *Biotropica* 12(2):56-64.

Jasper, D.A., Abbott, L.K. Robson, A.D. 1991. The effect of soil disturbance on vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in soils from different vegetation types. *New Phytologist* 118:471-476.

Johnson, D., Ijdo, M., Genney, D.R., Anderson, I.C. Alexander, I.J. 2005. How do plants regulate the function, community structure, and diversity of mycorrhizal fungi? *Journal of Experimental Botany* 56(417):1751-1760.

Kaul, T.N. 2002. *Biology and conservation of mushrooms*. Science Publishers, India.

Kernaghan, G. 2005. Mycorrhizal diversity: Cause and effect? *Pedobiologia* 49:511-520.

Klironomos, J.N. y Hart, M.M. 2002. Colonization of roots by arbuscular mycorrhizal fungi using different sources of inoculum. *Mycorrhiza* 12:181-184.

Koske, R.E. y Gemma, J.N. 1990. VA mycorrhizae in strand vegetation of Hawaii: Evidence for long-distance codispersal of plants and fungi. *American Journal of Botany* 77:466-474.

Kottke, I., Beck, A., Oberwinkler, F., Homeier, J. Neill, D. 2004. Arbuscular endomycorrhizas are dominant in the organic soil of a neotropical montane cloud forest. *Journal of Tropical Ecology* 20:125-129.

Kottke, I. y Nebel, M. 2005. The evolution of mycorrhizal-like associations in liverworts: an update. *New Phytologist* 167(2):330-334.

Krishna, K.R. 2005. *Mycorrhizas a molecular analysis*. Science Publishers, Inc. India.

Laurance, F.W., Ferreira, V.L. Rankin-De Merona, M.J. Laurance, G.S. 1998. Rain forest fragmentation and the dynamics of Amazonian tree communities. *Ecology* 79(6):2032-2040.

Leake, J., Jhonson, D., Donnelly, D., Muckle, G., Boddy, L. Read, D. 2004. Networks of power and influence: the role of mycorrhizal mycelium in controlling plant communities and agroecosystem functioning. *Canadian Journal of Botany* 82:1011-1045.

Ling-Fei, L., Tao, L. Zhi-Wei, Z. 2007. Differences of arbuscular mycorrhizal fungal diversity and community between a cultivated land, an old field, and a never-cultivated field in a hot and arid ecosystem of southwest China. *Mycorrhiza* 17:655-665.

Liu, R.-J. y Luo, X.-S. 1994. A new method to quantify the inoculums potential of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 128:89-92.

Lovera, M. y Cuenca, G. 2007. Diversidad de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) y potencial micorrícico del suelo de una sabana natural y una sabana perturbada de la Gran Sabana. *Interciencia* 32(2):108-114.

Magurran, A.E. 1988. *Diversidad ecológica y su medición*. Ediciones Vedral, Barcelona.

Maheshwari, R. 2005. *Fungi, experimental methods in biology*. Taylor y Francis. EU.

- Marschner, H. y Dell, B. 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil* 159(1):89-102.
- Malloch, D.W., Pirozynski, K.A. Raven, P.H. 1980. Ecological and evolutionary significance of mycorrhizal symbiosis in vascular plants (A review). *Proceedings of the National Academy of Sciences* 77:2113-2118.
- Miller, R.M., Carnes, B.A. Moorman, T.B. 1985. Factors influencing survival of vesicular-arbuscular mycorrhizal propagules during top soil storage. *Journal of Applied Ecology* 22:259-266.
- Miller, R.M. y Jastrow, J.D. 2000. Mycorrhizal fungi influence soil structure. En: *Arbuscular mycorrhizae: Physiology and Function*. (ed.) Kapulnik, Y. y Douds, D. Kluwer, Academic publisher. Dordrecht.
- Moeyerson, B., Fitter, A.H. Alexander, I.J. 1998. Spatial distribution of ectomycorrhizas and arbuscular mycorrhizas in the Korup National Park rain forest, Cameroon, in relation to edaphic parameters. *New Phytologist* 139:311-320.
- Mohammad, M.J., Hamad, S.R. Malkawi, H.I. 2003. Population of arbuscular mycorrhizal fungi in semi-arid environment of Jordan as influenced by biotic and abiotic factors. *Journal of arid environments* 53:409-417.
- Mohankumar, V. y Mhadevan, A. 1988. Vesicular-arbuscular (VA) mycorrhizal distribution with respect to organic matter content of the soil in a tropical forest. *Tropical Ecology* 29:55-62.
- Moreira, M., Nogueira, M.A., Tsai, S.M., Gomes-da-Costa, S.M. Cardoso, E.J.B.N. 2007. Sporulation and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in Brazil Pine in the field and greenhouse. *Mycorrhiza* 17: 519-526.
- Morton, J.B., y G.L. Benny. 1990. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, Glomales, two suborders, Glominae and Gigasporinae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. *Mycotaxon* 37: 471-491.
- Morton, J.B., Koske, R.E. Strümer, L.S. Betivenga, S.P. 2004. Mutualistic arbuscular endomycorrhizal fungi. En: *Biodiversity of fungi, inventory and monitoring methods*. (ed.) Mueller, G.M., Bills, G.F Foster, M.S. Elsevier. China.
- Naeem, S., Thompson, L.J., Lawler, S.P., Lawton, J.H. Woodfin, R.M., 1994. Declining biodiversity can alter the performance of ecosystems. *Nature* 368:734-737.
- Oehl, F., Sieverding, E., Ineichen, K., Mäder, P., Boller, T. Wiemken, A. 2003. Impact of land use intensity on the species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems of central Europe. *Applied Environmental Microbiology* 69(5):2816-2824.
- Pagiola, S., Bishop, J. Landell-Mills, N. 2003. La venta de servicios ambientales forestales. Instituto Nacional de Ecología. México D.F.

Perez-Moreno, J. y Read, D. 2004. Los hongos ectomicorrícicos, lazos vivientes que conectan y nutren a los árboles en la naturaleza. *Interciencia*. 29(5): 239-247.

Phillips, J.M. y Hayman D.S.1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55:158-160.

Rashid, A., Ahmed, T., Ayub, N. Khan, A.G. 1997. Effect of forest fire on number viability and post-fire re-establishment of arbuscular mycorrhizae. *Mycorrhiza* 7:217-220.

Read, D. J. y Perez-Moreno, J. 2003. Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems – a journey towards relevance? *New Phytologist* 157 (3):475–492.

Richter, S. B., Tiller, R.L. Stutz, J.C. 2002. Assessment of arbuscular mycorrhizal fungal propagules and colonization from abandoned agricultural fields and semi-arid grasslands in riparian floodplains. *Applied Soil Ecology* 20:227-238.

Rillig, C.M. y Mummey, L.D. 2006. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist* 171(1):41-53.

Rzedowski, J. 1996. Análisis preliminar de la flora vascular de los BMM de México. *Acta Botánica Mexicana* 35:25-44.

Sakakibara, S.M., Jones, M.D., Gillespie, M., Hagerman, S.M., Forrest, M.E., Simard, S.W. Durall, D.M. 2002. A comparison of ectomycorriza identification based on morphotyping and PCR-RFLP analysis. *Mycological Research* 106(8):868-878.

Sanders, I. R. 2002 Ecology and evolution of multigenomic arbuscular mycorrhizal fungi. *The American Naturalist* 160(4):128-141.

Sieverding, E. 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. *Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit*. Eschborn, Alemania.

Simard, S.W., Perry, D.A., Jones, M.D., Myrold, D.D., Durall, D.M. Molina, R. 1997. Net transfer of carbon between ectomycorrhizal tree species in the field. *Nature* 388:579-582.

Smith, E. S. y Read, D.J. 1997. *Mycorrhizal Symbiosis*. 2ª Ed. Academic Press, San Diego.

STATSOFT, INC. 2001([www.statsoft.com](http://www.statsoft.com))

Tarafdar, J.C. y H. Marschner. 1994. Efficiency of VAM hyphae in utilization of organic phosphorus by wheat plants. *Soil Scientific Plant Nutrition* 40(4):593-600.

Tilman, D., Wedin, D. Knops, J. 1996. Productivity and sustainability influenced by biodiversity in grassland ecosystems. *Nature* 379:718-720.

Thorn, G. 1997. The fungi in soils. En: Modern soil microbiology. (ed.) van Elsas, J.D., Trevors, J.T. y Wellington, E.M.H. Marcel Dekker. Nueva York.

Trevors, T.J. y van Elsas, J.D. 1997. Microbial interactions in soil. En: Modern soil microbiology. (ed.) van Elsas, J.D., Trevors, J.T. y Wellington, E.M.H. Marcel Dekker. Nueva York.

Valdés, M., Córdova, J., Gómez, M. Fierros, A.M. 2003. Understory vegetation and ectomycorrhizal sporocarp diversity response to pine regeneration methods in Oaxaca, Mexico. *Journal of Applied Forestry* 18(2):101-108.

van der Heijden, M.G.A., J.N. Klironomos, M. Ursic, P. Moutoglis, R. Streitwolf-Engel, T. Boller, A. Wiemken I.R. Sanders. 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396:69-72.

Velázquez-Rosas, N., Meave, J. Vázquez-Santana, S. 2002. Elevational Variation of Leaf Traits in Montane Rain Forest Tree Species at La Chinantla, Southern México *Biotropica* 34 (4):534-546.

Wamberg, C., Christensen, S. Jakobsen, I. 2003. Interaction between foliar-feeding insects, mycorrhizal fungi, and rhizosphere protozoa on pea plants. *Pedobiologia* 47(3): 281-287.

Wilkinson, D.M. 1998. The evolutionary ecology of mycorrhizal networks. *Oikos* 82:407-410.

Williams-Linera, G. 2007. El bosque de niebla del centro de Veracruz: ecología, historia y destino en tiempos de fragmentación y cambio climático. CONABIO – Instituto de Ecología, A.C., Xalapa, Veracruz, México.

Wilson, J.M. y Trinick, M.J. 1982. Factors affecting the estimation of numbers of infective propagula of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi by the most probable number method. *Australian Journal of Soil Research*. 21:72-81.

Wright, S. F. y Upadhyaya, A. 1998. A survey of soils for aggregate stability and glomalina, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 198:97-107.

Zhang, Y., Guo, L.-D. Liu, R.-J. 2004. Survey of arbuscular mycorrhizal fungi in deforested and natural forest land in the subtropical region of Dujiangyan, southwest China. *Plant and Soil*. 261:257-263.

Zhao, Z., Xia, Y., Qin, X, Li, X., Cheng, L., Sha, T. Wang, G. 2001. Arbuscular mycorrhizal status of plants and the spore density of arbuscular mycorrhizal fungi in the tropical rain forest of Xisuangbanna, southwest China. *Mycorrhiza* 11:159-162.